

7<sup>èmes</sup>

# ASSISES DE GÉNÉTIQUE

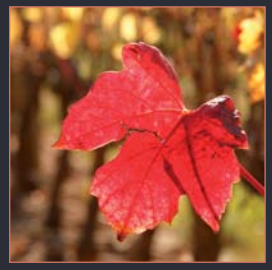
HUMAINE ET MÉDICALE •

29-30-31 JANVIER - 2014  
PALAIS DES CONGRÈS  
BORDEAUX

## RECUEIL



Président du Comité Scientifique :  
**Didier LACOMBE**  
Président du Comité d'Organisation :  
**Benoit ARVEILER**



# RECUEIL DES PLÉNIÈRES

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

Congrès et Expositions de Bordeaux - allée Louis Ratabou - 33300 Bordeaux



## PLÉNIÈRE N°1 GÈNES DU DÉVELOPPEMENT

### **C1 - Régulation génétique à distance pendant le développement : archipels, déserts et domaines topologiques.**

*Denis Duboule* (Genève, Suisse)

---

*Texte non parvenu*

## C2 - Développement de la face.

*Sandrine Marlin*

CMR Surdités Génétiques  
CMR Malformations ORL Rares  
CMR Malformations de la Face et de la Cavité Buccale  
INSERM 1120  
Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris

---

Notre visage est un outil psychologique et relationnel fort. Les caractéristiques morphologiques de notre visage peuvent être la base d'une valorisation sociale ou à l'inverse de discrimination. Elles sont également le reflet de notre évolution depuis des milliers d'années et de notre appartenance à un groupe d'individus (homme-femme, enfant-adulte-sénior, origine ethnique).

En génétique, la dysmorphologie est la preuve de l'influence de certains gènes sur la formation des différentes parties de la face. Dernièrement de nombreux outils ont vu le jour afin d'établir des relations entre nos particularités faciales et certaines anomalies chromosomiques ou géniques.

Lors de cette intervention, j'essayerai de résumer les principales expressions géniques lors des étapes embryologiques du développement de la face et j'aborderai certains mécanismes génétiques particuliers en m'appuyant sur les connaissances physiopathologiques à l'origine de certaines malformations de la face.

### Bibliographie :

- Fine tuning of craniofacial morphology by distant-acting enhancers.

Attanasio C, Nord AS, Zhu Y, Blow MJ, Li Z, Liberton DK, Morrison H, Plajzer-Frick I, Holt A, Hosseini R, Phouanavong S, Akiyama JA, Shoukry M, Afzal V, Rubin EM, FitzPatrick DR, Ren B, Hallgrímsson B, Pennacchio LA, Visel A.  
Science. 2013 Oct 25;342(6157):1241006. doi: 10.1126/science.1241006

- Human facial dysostoses.

Wieczorek D.  
Clin Genet. 2013 Jun;83(6):499-510. doi: 10.1111/cge.12123.

- Microtia: epidemiology and genetics.

Luquetti DV, Heike CL, Hing AV, Cunningham ML, Cox TC.  
Am J Med Genet A. 2012 Jan;158A(1):124-39

- Face shape differs in phylogenetically related populations.

Hopman SM, Merks JH, Suttie M, Hennekam RC, Hammond P.  
Eur J Hum Genet. 2014 Jan 8.

- The facial evolution: looking backward and moving forward.

Baynam G, Walters M, Claes P, Kung S, LeSouef P, Dawkins H, Gillett D, Goldblatt J.  
Hum Mutat. 2013 Jan;34(1):14-22

- Large-scale objective phenotyping of 3D facial morphology.

Hammond P, Suttie M.  
Hum Mutat. 2012 May;33(5):817-25

- Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences.

Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC.  
Nat Rev Genet. 2011 Mar;12(3):167-78.

- The evolution of human genetic studies of cleft lip and cleft palate.

Marazita ML.

Annu Rev Genomics Hum Genet. 2012;13:263-83

- Cranial neural crest cells on the move: their roles in craniofacial development.

Cordero DR, Brugmann S, Chu Y, Bajpai R, Jame M, Helms JA.

Am J Med Genet A. 2011 Feb;155A(2):270-9

- Craniofacial Embryogenetics and Development. Sperber GH, Sperber SM, Guttman GD. Sec Ed. People's Medical Publishing House- USA. 2010.

- <https://www.facebase.org/genewiki>

**C3 - Développement et oncogénèse.**

*Thierry Frebourg (Rouen)*

---

*Texte non parvenu*

## C4 - Études génétiques dans les anomalies du développement avec atteinte cutanée en mosaïque

Jean-Baptiste Rivière<sup>1,2</sup>, Judith St-Onge<sup>1,2</sup>, Yannis Duffourd<sup>1</sup>, Jean-Benoît Courcet<sup>1,3</sup>, Laurence Faivre<sup>1,3</sup>, Pierre Vabres<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Equipe d'Accueil 4271, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France.

<sup>2</sup>Laboratoire de Génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France.

<sup>3</sup>Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France.

<sup>4</sup>Service de Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France.

---

Les mutations qui apparaissent précocement au cours de l'embryogénèse (dites « post-zygotiques ») produisent un organisme mosaïque, c'est-à-dire composé de populations de cellules génétiquement différentes malgré leur origine commune. Des mutations post-zygotiques sont – ou pourraient – être la cause d'un large éventail d'anomalies du développement dont l'atteinte cutanée évoque un mosaïcisme. Il s'agit de nævus épidermiques verruqueux ou sébacés, de malformations vasculaires cutanées, d'hémangiomes segmentaires ou de troubles pigmentaires. Ces manifestations se retrouvent à divers degrés dans de nombreuses affections congénitales et sporadiques qui peuvent, dans certains cas, être classées en entités syndromiques. Longtemps réfractaires aux analyses génétiques conventionnelles, ces pathologies ont récemment bénéficié de l'essor du séquençage nouvelle génération, particulièrement du séquençage de l'exome. Aux cours des deux dernières années, diverses études ont notamment identifié des mutations postzygotiques d'*AKT1* dans le syndrome de Protée, de *PIK3CA*, *MTOR* ou *AKT3* dans le syndrome mégalencéphalie-malformation capillaire, le spectre CLOVE-hyperplasie fibroadipeuse-Klippel-Trenaunay et l'hémimégalencéphalie, de *HRAS* et *KRAS* dans le nævus sébacé associé ou nom au syndrome de Schimmelpenning, ainsi que de *GNAQ* dans les angiomes plan et le syndrome de Sturge-Weber. Malgré des avancées importantes sur la génétique de diverses anomalies du développement avec atteinte cutanée en mosaïque, de nombreuses questions restent à élucider. Le premier volet de nos recherches sur cette thématique vise à mieux définir le spectre phénotypique associé à des mutations post-zygotiques des gènes susmentionnés et de développer du séquençage ciblé en profondeur permettant de détecter des mutations faiblement représentées afin d'optimiser le diagnostic moléculaire de ces pathologies. Le deuxième volet consiste à identifier de nouveaux gènes responsables d'anomalies du développement par du séquençage d'exomes à l'aide d'une approche par trios. Les premiers résultats de ce deuxième volet nous ont permis d'identifier deux gènes responsables d'anomalies du développement avec troubles pigmentaires en mosaïque. À terme, il est attendu que ces travaux mèneront à une meilleure compréhension de ces pathologies sur le plan moléculaire, ce qui devrait améliorer la prise en charge des familles atteintes.

## CONFÉRENCE D'ACTUALITÉ

### C5 - SANTÉ, MALADIES ET MICROBIOME HUMAIN

*S. Dusko Ehrlich*

Metagenopolis, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Jouy en Josas, France ;  
Human microbiome center, King's College, London, UK

---

Une des questions majeures en biologie humaine porte sur le rôle des communautés microbiennes dans la santé et la maladie. Pour tenter d'y répondre, une nouvelle approche, dénommée Métagénomique Quantitative, a été développée au sein du consortium MetaHIT, soutenu par la Commission Européenne. L'approche permet de visualiser ces communautés avec une grande précision et de révéler ainsi les associations des espèces qui la composent et des phénotypes humains.

L'élément central de l'approche est le catalogue exhaustif des gènes des microbes intestinaux (Qin et al. 2010), baptisé notre autre génome. Il permet de déterminer, par un séquençage massif de l'ADN total extrait des selles d'un individu, la présence et l'abondance de chacun de ces gènes microbiens que l'individu porte.

Métagénomique quantitative a permis de mettre en évidence trois types de communautés microbiennes intestinales abritées par les humains, dénommées enterotypes (Arumugam et al, 2011). Cette facette fondamentale de la biologie humaine n'est pas encore pleinement comprise, et le nombre, les contours et la composition des enterotypes sont actuellement débattus, mais leur utilité dans la stratification des individus et l'étude des associations des communautés microbiennes associées à la santé et la maladie est évidente.

Métagénomique quantitative a révélé des perturbations des communautés microbiennes dans le diabète (Qin et al. 2012), et la perte considérable de la richesse microbienne chez près d'un quart des individus étudiés. Cette perte, corrélée avec le risque accru de développer les maladies associées au syndrome métabolique, tel que le diabète de type 2 et des complications cardio-vasculaires (Le Chatelier et al., 2013), peut être détectée avec une grande précision en mesurant l'abondance de seulement quelques espèces microbiennes et peut être corrigée, au moins en partie, par une intervention nutritionnelle (Cotillard et al., 2013).

Le regard nouveau que nous pouvons désormais porter sur les microbes intestinaux qui nous accompagnent, par la métagénomique quantitative, permet d'apercevoir les dimensions inattendues de leur rôle dans la santé et la maladie, promettant de nous mener vers une compréhension plus complète de la biologie humaine.

Qin et al. (2010) *Nature*. **464**(7285):59-65.

Arumugam et al. (2011), *Nature* **473**, 174-180.

Qin, et al, (2012), *Nature* **490**, 55-60.

Le Chatelier et al. (2013), *Nature*, **500**, 541–546.

Cotillard et al. (2013) *Nature*, **500**, 585–588.



## PLÉNIÈRE N°2 DU GÉNOME À L'ÉTHIQUE

### C6 - Petits ARN régulateurs et empreinte génomique parentale.

*Jérôme Cavallé*

Université de Toulouse; UPS; Laboratoire de Biologie Moléculaire Eucaryote, Toulouse; CNRS, Toulouse

---

Les nouvelles plateformes de séquençage haut débit ont révélé l'existence chez l'homme d'une myriade de transcrits atypiques qui, en l'état actuel de nos connaissances, n'ont pas de potentiel codant convaincant. On parle d'ARN non-codants (ARNnc) dont la complexité du répertoire égale, sinon dépasse, celle des «gènes classiques» codant des protéines. Bien que leur fonction demeure en général très peu documentée, certains d'entre eux apparaissent d'ores et déjà comme des régulateurs majeurs de l'expression des gènes, et ce, aussi bien au niveau épigénétique, transcriptionnel, post-transcriptionnel que traductionnel.

Notre équipe s'intéresse à 2 familles d'ARNnc: les microARN (miARN) et les petits ARN nucléolaires à boîtes C/D (C/D snoARN). Ces ARNnc contrôlent l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel en s'appariant avec d'autres ARN. Les miARN provoquent la mise en silence des ARNm en inhibant leur traduction (voire en accélérant leur dégradation) tandis que les C/D snoARN induisent la synthèse de méthylation en 2'-O-ribose sur des positions nucléotidiques spécifiques, principalement sur les ARNr et U-snoARN. L'originalité des miARN et des C/D snoARN que nous étudions réside dans leurs modes d'organisation et d'expression. Ils sont en effet générés à partir de grandes régions génomiques (~30-100 kb) qui hébergent de nombreux gènes répétés en tandem (n~ 50-100) dont l'expression est régulée par l'empreinte génomique parentale, un phénomène épigénétique fascinant qui conduit à une expression monoallélique strictement dépendante de l'origine parentale des allèles. Par exemple, pour un gène donné, seule l'allèle transmis par le père est actif alors que l'allèle provenant de la mère - génétiquement fonctionnel et dans le même noyau - demeure dans un état silencieux. Fait remarquable, de tels ARNnc ne sont conservés que chez les mammifères placentaires (euthériens) et se concentrent au sein de 4 domaines chromosomiques distincts sur le plan évolutif: le locus Snurf-Snrpn (ou PWS), le locus Dlk1-Dio3, le locus C19MC et dans l'intron du gène Sfbmt2.

Au cours de cet exposé, je présenterai des travaux non publiés portant sur la fonction physiologique de nombreux miARN positionnés au locus Dlk1-Dio3: c'est le cluster mir-379/miR-410, aussi nommé C14MC chez l'homme

#### **En savoir plus ?**

Royo & Cavallé (2008); Labialle and Cavallé (2011); Labialle et al (2011); Girardot et al (2012).

## C7 - Une brève histoire de l'architecture du Génome

*Pr Serge Romana*

Service de Cytogénétique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris  
Université Paris Descartes

---

Différentes techniques : caryotype, FISH, CGH array, ultracentrifugation, expériences de dénaturation - renaturation, séquençage... montre que l'architecture des génomes des procaryotes, eucaryotes unicellulaires et métazoaires, résulte des effets successifs de différents types de remaniements génomiques survenus au cours de l'évolution.

Il y a 3,5 milliards d'années, la vie émerge avec les petits chromosomes des procaryotes. Ils sont circulaires pour la quasi-totalité d'entre eux, possèdent une origine de réplication et sont constitués exclusivement d'ADN codant des protéines. Les chromosomes linéaires apparaissent 1,4 milliard d'années plus tard avec les eucaryotes unicellulaires. Les éléments essentiels de l'architecture des chromosomes linéaires se mettent progressivement en place : multiples origines de réplication, répétitions d'oligonucléotides spécialisés dans la protection des extrémités (les télomères) et dans la ségrégation des chromosomes (les centromères).

Sous l'effet de différents types de remodelages chromosomiques (réarrangements de structure et de nombre), les génomes sont progressivement envahis par de l'ADN non codant (intra ou extra génique). Son rôle est de moduler l'expression des gènes. La taille des génomes s'accroît donc, de 3 Mb à 30 Mb pour les eucaryotes unicellulaires, à 3000 Mb pour notre espèce et à 150 000 Mb pour la plante *Paris Japonicus*.

Les duplications géniques sont le principal moteur de l'évolution. Elles permettent à un organisme de tolérer les modifications qualitatives de la séquence. De ce fait, de nouveaux gènes et de nouveaux mécanismes de contrôle de l'expression génique vont émerger entraînant l'apparition de nouvelles espèces.

Ces duplications géniques surviennent dans un premier temps suite à des remaniements de la structure des chromosomes et sont associées à l'apparition des métazoaires, il y a environ 600 000 ans, au Cambrien inférieur. Vers - 455 millions d'années, une double amplification de génomes entiers (suite à de possibles anomalies des centrosomes ou des checkpoints mitotiques) va générer une augmentation massive des génomes et correspond à l'apparition des premiers vertébrés.

L'accumulation de matériel chromosomique, au cours de l'évolution, s'effectue de façon inhomogène en ce qui concerne la composition en bases AT et GC. L'étude des génomes de différentes espèces par ultracentrifugation en CsCl et en Cs<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/Ag<sup>+</sup> montre qu'à l'inverse des protozoaires, des métazoaires unicellulaires et des invertébrés, les molécules d'ADN chromosomiques sont constituées d'une mosaïque de fragments, d'environ 300 kb de densité relativement homogène, appelés isochores. Cinq grandes familles d'isochores sont classiquement décrites : L1, L2, L3 (L pour *light*), H1 et H3 (H pour *heavy*). Elles sont définies par leur ratio en GC/AT qui augmente de L1 à H3. La répartition de ces isochores le long de l'axe chromosomique est caractéristique de chaque paire de chromosomes et génère les bandes que les cytogénéticiens observent dans leur pratique quotidienne. Il s'agit, comme le propose Giorgio Bernadi, d'un véritable « phénotype génomique » qui est spécifique de chaque espèce et semble lié à l'environnement dans lequel elle évolue : peu de familles d'isochores chez les poïkilothermes (principalement des isochores de la famille des L) à l'inverse des vertébrés homéothermes chez lesquels l'ensemble des familles est très largement représenté. Ce phénotype génomique correspond également à des caractéristiques géniques et fonctionnelles, car les isochores H sont riches en gènes, en particulier en gènes de ménage et sont les premiers à se répliquer en phase S alors que les isochores L contiennent plus volontiers des gènes dont l'expression est spécifique de tissus et se répliquent plus tardivement.

Il y a une centaine de millions d'années, l'invasion des génomes de certains mammifères dont les primates et les rongeurs par des rétrotransposons contribue également à l'augmentation de la taille des génomes. Cette invasion respecte le phénotype génomique avec une intégration des séquences LINES (séquences riches en AT, constituant 21% d'un génome humain) au niveau des isochores L et des séquences Alu (séquences riches en GC, constituant environ 13% d'un génome humain) au niveau des isochores H.

Enfin, l'existence de remaniements de structure accompagne la spéciation des différents grands primates. En effet, certaines séquences génomiques, appelées dupliquons, provenant de différents chromosomes, vont s'insérer (principalement) dans les régions péri-centromériques de certains chromosomes. Ces nouvelles séquences vont se dupliquer un certain nombre de fois (2 à 5 fois en moyenne) constituant les « duplications segmentaires » ou *Low Copy Repeats* (LCR). Celles-ci, dont la taille va de 10 kb à 200 kb, sont intra-chromosomiques et espacées en moyenne de 0,1 Mb à 2 Mb. Elles sont constituées de gènes, de pseudogènes ou d'autres types de séquences. Compte tenu de leur fort degré d'homologie, elles sont le siège de recombinaisons qui sont à l'origine de variations polymorphes de nombre de copies de gènes qu'elles contiennent. Ces polymorphismes ont été déterminants lors de la spéciation des grands primates et contribuent aujourd'hui de façon importante à la diversité humaine.

En conclusion, l'apparition l'ADN a permis l'éclosion de la vie qui le fit croître de façon exponentiel. Il y a 3,5 milliards d'années, la vie a amplifié le nombre de molécules d'ADN, qui mises bout à bout couvrent aujourd'hui une distance de  $10^{12}$  années-lumière soit 10 fois le diamètre estimé de l'univers. Cette extension s'est faite grâce aux remaniements chromosomiques qui ont généré des architectures génomiques diverses et spécifiques des espèces existant sur Terre. De ce point de vue, les anomalies génomiques associées aux malformations congénitales, au déficit intellectuel et aux cancers ne sont que le tribut que nous payons à l'Évolution.

#### **Quelques éléments bibliographiques**

Susumo O. Evolution by Gene Duplication (1970)

Bernardi G. Structural and evolutionary Genomics. Natural Selection in Genome Evolution (2005)

Lynch M. The origins of genome architecture (2007)

Putman N.H. et al. The amphioxius genome and the evolution of the cordate karyotype (2008)

Marques-Bonet T. et al. A burst of segmental duplications in the genome of the African great ape ancestor (2009)

Sudmant P.H. et al. Diversity of Human Copy Number Variation and Multicopy Genes (2010)

Kuraku S. Impact of asymmetric gene repertoire between cyclostomes and gnathostomes (2013)

## **C8 - Ethique et NGS.**

### **A propos des enjeux éthiques des techniques de séquençage de nouvelle génération en pratique clinique**

*Perrine Malzac*

Praticien Hospitalier

Département de Génétique Médicale et Espace Ethique Méditerranéen / ERERI-PACA Corse,  
Assistance Publique Hôpitaux de Marseille  
UMR 7268 ADES, Aix-Marseille Université/EFS/CNRS

---

« Le désir d'atteindre à une connaissance objective fait partie des choses les plus sublimes dont l'Homme soit capable. Mais il n'existe aucun chemin qui conduise de la connaissance de ce qui est à celle de ce qui doit être. »

Albert EINSTEIN

« L'Homme sait assez souvent ce qu'il fait, il ne sait jamais ce que fait ce qu'il fait »

Paul VALERY

Alors même que les conditions techniques pour l'exploration globale des génomes « personnels » semblent réunies, permettant d'espérer l'acquisition rapide de connaissances et une meilleure compréhension des déterminants génétiques à l'origine des maladies, se pose la question des conséquences individuelles et collectives de l'usage de ces nouvelles approches. Les enjeux éthiques sont considérables et obligent chacun, les professionnels et les usagers du système de santé, mais aussi les politiques, les industriels et chaque citoyen, à s'interroger au sujet des usages de ces nouveaux outils d'exploration mais aussi au sujet des discours véhiculés à leur propos. Les questions soulevées concernent aussi bien la recherche que les approches diagnostiques des NGS, cependant nous orienterons plus précisément le débat sur les enjeux éthiques des NGS dans le cadre du diagnostic des maladies génétiques, actuellement en plein développement.

Après un rappel des principes éthiques à l'origine des règles juridiques qui régissent l'usage des tests génétiques en France, nous interrogerons le concept « d'information » en situation complexe, c'est-à-dire lorsque l'incertitude est grande et le champ des possibles très vaste. Comment dans ces conditions recueillir un consentement éthiquement valable, c'est-à-dire respectueux de la personne et de ses préférences, alors même que les analyses qui lui sont proposées ont des potentialités difficiles à délimiter ? Comment dans ces conditions transmettre des résultats valides, actualisés, pertinents et utiles pour le patient et sa famille ?

La réflexion interrogera aussi les indications possibles, prévisibles ou envisageables de l'usage des NGS dans des approches diagnostiques ou prédictives. Tout ce qui est faisable doit-il nécessairement être fait, dans quels buts et avec quels « effets secondaires » pour l'individu et pour la société ? L'accès à la technique est-il toujours une expression de la liberté, un progrès tel que défini par les philosophes de la Modernité ?

Enfin nous aborderons la question des regards et discours que nous avons collectivement à propos des processus de technicisation. Les menaces dont les nouvelles technologies seraient porteuses résultent-elles seulement de leurs usages et mésusages ? Appauvrissement de la langue, fascination aveugle et formatage des esprits ne représentent-ils pas des menaces plus redoutables encore lorsque la technique cesse d'être un simple ensemble de moyens pour devenir en même temps un processus qui guide nos actes et nos décisions.

## **C9 - Le 'Next Generation Sequencing' en pratique clinique**

*Gert Matthijs*

Center for Human Genetics, University of Leuven, Leuven, Belgium

---

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) est rapidement optimisé dans le but d'être utilisé en diagnostic. Les défis posés par ces technologies concernent aussi bien le plan technique et la gestion des données, que l'interprétation des résultats. Il est donc nécessaire d'établir un cadre spécifique pour l'utilisation du NGS en diagnostic afin de garantir la qualité des tests avant que les résultats ne soient utilisés en clinique.

Les plates-formes actuellement disponibles ne sont pas encore stables, technologie et applications étant en constante évolution. En outre, chaque plate-forme est techniquement limitée, notamment de part la précision avec laquelle la séquence est lue et assemblée. Les différents tests doivent également tenir compte des limites conceptuelles de chaque technologie, par exemple les séquenceurs produisant des reads courts ne permettent pas la détection de longues répétitions.

De telles préoccupations ne devraient cependant pas proscrire l'utilisation du NGS en diagnostic. Les laboratoires qui ont de l'expérience dans l'évaluation et la validation des tests moléculaires ne doivent pas avoir peur de préparer l'intégration du NGS en diagnostic. Toutefois, l'application des règles de validation des tests de laboratoire classiques aux tests NGS n'est pas simple.

Au cours des deux dernières années, les communautés génétiques américaines, australiennes, britanniques et néerlandaises ont émis des directives. Au sein d'EuroGentest, un groupe d'experts vise à compiler, intégrer et compléter ces directives afin de faciliter la mise en place et la validation des tests diagnostics utilisant le NGS. Ces directives se focalisent sur les tests NGS établis dans le contexte des maladies rares et monogéniques. Les défis et points majeurs des directives seront présentés. Par exemple, nous estimons que définir l'utilité diagnostique du test est le premier devoir du laboratoire lors de la mise en place des tests diagnostics basés sur le NGS. Nous proposons d'introduire un système de notation pour les tests NGS en fonction de leur qualité et exhaustivité. Un tel système permettrait aux patients et médecins de comparer les tests offerts par différents laboratoires et pourrait également être utilisé par le système de soins de santé pour évaluer et rembourser ces tests.

D'un point de vue plus technique, les paramètres de qualité du séquençage à haut débit doivent être normalisés. Par exemple, nous proposons de calculer la portion de la cible technique, de la cible clinique et de l'exome pour lesquels un génotype (référence ou variant) est fiable. Ces trois paramètres permettront non seulement d'évaluer la qualité d'un test mais aussi de comparer les résultats fournis par différents tests et laboratoires.

Enfin, les directives traitent du formulaire de consentement et des résultats non sollicités, du point de vue du laboratoire. La différence entre la recherche et le diagnostic est définie et une solution pratique concernant le «devoir de recontacter» les patients est proposée. Les directives ne peuvent évidemment pas être stables dans un domaine qui évolue rapidement. Pourtant, les aspects essentiels de qualité et de bonnes pratiques du laboratoire et de la pratique clinique, ne doivent jamais changer.

## CONFÉRENCE PLÉNIÈRE

### C10 - GÉNÉTIQUE DE LA VIGNE ET DU VIN

*Jean Weissenbach*

Genoscope – Centre national de séquençage/Institut de Génomique/CEA  
Evry, France

---

Le séquençage du génome de la vigne, *Vitis vinifera*, a été réalisé au cours de la décennie précédente (1). Nous reviendrons sur les objectifs et les raisons de ce projet ainsi que sur les options stratégiques retenues. Sa réalisation sera évoquée sous un angle historique. Les principales observations scientifiques, comme souvent inattendues (1), seront rappelées. Enfin les retombées permises et les nouveaux développements de la génomique de la vigne seront brièvement décrits.

(1) Jaillon, O., J. M. Aury, et al. (2007). "The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla." *Nature* 449(7161): 463-467.

## PLÉNIÈRE N°3 GÉNÉTIQUE ET NEUROSCIENCES

### **C11 - Genes, synapses and AutismS**

*Thomas Bourgeron (Paris)*

---

The diagnosis of autism spectrum disorders (ASD) is based on impairments in reciprocal social communication, and repetitive behaviours, but beyond this unifying definition lies an extreme degree of clinical and genetic heterogeneity. Our previous studies pointed at one synaptic pathway associated with the condition. Among the causative genes, synaptic cell adhesion molecules (neuroligins and neurexins) and scaffolding proteins (SHANK) are crucial for synapse formation/maintenance as well as correct balance between inhibitory and excitatory synaptic currents. In parallel, we identified genetic mutations that disrupt the serotonin-N-acetylserotonin-melatonin signaling in a subset of patients. In this presentation, I will discuss our recent results coming from human studies in large populations and genetic isolates as well as mouse studies that shed new light on the inheritance of ASD and on the phenotypic consequences of carrying mutations in clock and synaptic genes. Hopefully, this knowledge should improve the diagnosis, care and integration of patients with ASD.

## **C12 - Nouveaux mécanismes de neurotoxicité : C9ORF72, TDP-43 et pathologie de l'ARN.**

*Magalie Lecourtois*

Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen

---

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) et la Démence Lobaire Fronto-Temporale (DLFT) sont des maladies neurodégénératives qui possèdent des caractéristiques cliniques, pathologiques et génétiques communes. Le lien entre les deux pathologies s'est renforcé en 2011 par l'identification d'une expansion anormale d'un hexanucléotide (GGGGCC) dans l'intron 1 du gène *c9ORF72* comme une nouvelle cause génétique majeure des DLFT, SLA et DLFT-SLA.

Cette découverte a suscité l'intérêt de nombreuses équipes, qui se sont ainsi focalisées sur l'étude des fonctions de cette protéine et des conséquences moléculaires de ces répétitions introniques anormales. La fonction physiologique de la protéine *C9ORF72* reste encore totalement inconnue. En revanche, une transcription bidirectionnelle des répétitions a pu être mise en évidence. Ces molécules ARN sens et anti-sens peuvent ensuite être traduites en polypeptides (DPR) selon les 3 phases de lecture. En effet, la présence des répétitions permet une initiation de la traduction indépendante de la présence d'un codon ATG initiateur. En lien avec ces données moléculaires, des analyses réalisées sur des échantillons *post mortem* issus de patients ont permis de mettre en évidence plusieurs caractéristiques neuropathologiques spécifiques des expansions dans le gène *C9ORF72* : une diminution de l'expression de *C9ORF72* au niveau ARN, la présence d'agrégats d'ARN muté dans le noyau des cellules, la présence d'inclusions protéiques cytoplasmiques contenant les DPR et une pathologie TDP-43. Rappelons que dans les conditions physiologiques, la protéine TDP-43 (TAR DNA-binding protein-43) est impliquée dans le contrôle de multiples étapes du métabolisme de l'ARN (transcription, épissage, maturation, transport et traduction de l'ARNm).

Ainsi, trois mécanismes de toxicité principaux, non exclusifs, ont été proposés : (i) une perte de fonction de la protéine codée par le gène *C9ORF72*, (ii) un gain de fonction dû à la production d'une protéine mutée et (iii) un gain de fonction dû à la production d'ARN muté. Au cours de cette présentation nous décrirons chacun ces modèles, leur pertinence vis-à-vis de ces pathologies, ainsi que la contribution éventuelle de la pathologie TDP-43 aux processus de neurodégénérescence.



## **C13 - Le phénotype psychiatrique.**

*Dr Caroline Demily*

Centre de dépistage et de prises en charge des troubles psychiatriques d'origine génétique  
UDEIP- Centre Hospitalier le Vinatier, Bron

---

La prévalence des affections génétiques en population de sujets adultes souffrant d'un trouble mental est importante. Malheureusement ces patients ne bénéficient pas tous d'un diagnostic ou d'une prise en charge spécifique en milieu psychiatrique alors que des centres de référence spécialement dévolus à ces affections existent. Cette lacune peut s'expliquer par l'histoire même de la psychiatrie dont les acteurs de soin ont longtemps revendiqué un modèle non médical, opposant traditionnellement les soins du psyché à la médecine somatique, voire étant réfractaire à celle-ci.

De ce fait, les généticiens d'un côté et les psychiatres de l'autre n'ont que de très exceptionnels points de rencontre concernant la prise en charge.

De cette dichotomie résultent plusieurs observations :

- Le diagnostic d'une affection génétique à l'origine de symptômes psychiatriques n'est souvent pas fait si des points d'appel cliniques somatiques ne sont pas au premier plan.
- L'offre de soins psychiatriques spécifique (et en particulier de réhabilitation) destinée aux personnes porteuses d'une affection génétique est insuffisante.
- Les soins spécifiques mis en place pour les enfants ne sont pas facilement poursuivis à l'âge adulte

Les patients porteurs d'une affection génétique avec phénotype neurocomportemental présentent pourtant un profil clinique particulier. La prise en charge psychiatrique est rendue plus compliquée par l'affection initiale (qui peut modifier le tableau psychiatrique, surajouter des troubles cognitifs spécifiques voire associer un tableau neurologique, induire une sensibilité particulière aux traitements...). Le soin doit tenir compte de ces aspects pour améliorer la qualité de vie et les chances de réinsertion. Les manifestations psychiatriques et comportementales doivent se comprendre dans le cadre d'une évaluation des différentes composantes de la cognition (neurocognition, cognition sociale et métacognition) car les soins de type remédiation cognitive sont un des aspects fondamentaux de la prise en charge.

## **C14 - Métabolisme dans les maladies neuro-dégénératives : “biochemist wanted”.**

*Dr Fanny Mochel*

Maitre de Conférence Universitaire-Praticien Hospitalier

(1) Département de Génétique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière

(2) INSERM U-1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière

(3) Unité Fonctionnelle Neurométabolique Bioclinique et Génétique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière

(4) Université Pierre et Marie Curie, 75013 Paris

---

Au sein des maladies génétiques, les erreurs innées du métabolisme sont caractérisées traditionnellement par des stratégies diagnostiques et thérapeutiques propres. Ainsi, le diagnostic des maladies métaboliques peut souvent être orienté par des tests biochimiques et les capacités de moduler les voies métaboliques peuvent constituer des cibles thérapeutiques privilégiées. Aujourd’hui, l’essor du séquençage haut débit dans des maladies neurodégénératives nous amène à caractériser de nombreux gènes du métabolisme, impliqués en particulier dans la synthèse de lipides complexes. C’est le cas des gènes *DDHD1* (SPG28), *DDHD2* (SPG54), *CYP2U1* (SPG49), *GBA2* (SPG46) et *B4GALNT1* (SPG26) récemment identifiés dans des formes autosomiques récessives de paraparésie spastique. A l’image des biomarqueurs plasmatiques actuellement utilisés en routine dans le screening et/ou le traitement de certaines paraparésies spastiques, les approches lipidomiques devraient permettre le développement de tests biochimiques propres à ces nouvelles formes de paraparésie spastique. La maladie de Parkinson connaît également des avancées métaboliques importantes suite à l’identification de mutations hétérozygotes du gène *GBA1* comme premier facteur de risque de la maladie ainsi que la caractérisation des fonctions des protéines PINK1 et Parkin dans la machinerie d’import des protéines mitochondriales. Par ailleurs, l’étude du métabolisme cérébral *in vivo* par spectroscopie RMN du proton et du phosphore révèle des dysfonctions énergétiques précoces, y compris à un stade présymptomatique, dans les maladies à polyglutamines telles que la maladie de Huntington et les ataxies spinocérébelleuses. Ainsi, l’implication de biochimistes dans l’étude des maladies neurodégénératives apparaît indispensable pour approfondir les progrès permis par la génétique au sein des neurosciences.

## CONFÉRENCES PLÉNIÈRES

### C15 - L'EUGÉNISME : UNE RÉCURRENCE TRANS-CULTURELLE

*Prof. émérite Jacques Battin*

Université Bordeaux Segalen, Académie Nationale de médecine

---

Définition : **eugenics**, du grec, eu (bon), genos (naissance, race), étymologiquement la science des biens-nés, des bons gènes ; doctrine de régénération de l'espèce humaine formulée par sir Francis Galton (1822-1911 )

Idéologie pseudo-scientifique répandue au XIXème siècle correspondant à une époque dite de « décadentisme » où les fléaux infectieux, tuberculose et syphilis, faisaient des ravages et auxquels étaient opposés hygiénisme, darwinisme social et sélection humaine.

#### L'ancien eugénisme

- l'eugénisme d'Etat dans l'antiquité grecque, Lycurgue à Sparte, Platon à Athènes, Soranos d'Ephèse ; élimination des malformés, favoriser unions eugéniques.

- au siècle des Lumières, la callipédie - Maupertuis

- aux Etats-Unis, Scandinavie ; stérilisation des handicapés au XXème siècle

- dans l'Allemagne nazie ; euthanasie des handicapés, prélude à l'holocauste - en France, Gobineau, Viollet-le-Duc ; les prix Nobel français (Ch. Richet et A. Carrel). Jean Rostand. Les sociétés d'eugénisme en Occident et en Amérique

- en Angleterre, la revue « Annals of eugenics » fondée en 1926 deviendra en 1966 « Annals of human genetics ».

#### Le nouvel eugénisme

Dépistages dans les groupes à risque élevé.

Diagnostic prénatal, préimplantatoire.

Séquençage à haut-débit des génomes et médecine personnalisée ; génopathies (Etat d'Israël) ; maladies polyfactorielles, études génétiques sur internet. Du génome personnel au métagénome et à l'hologénome : un débat éthique.

## C16 - HISTORIQUE DE LA GÉNÉTIQUE EN FRANCE.

*Simone Gilgenkrantz (NANCY)*

---

En France, l'émergence de la génétique s'est produite lentement et de façon peu conventionnelle. Dans la première décennie du XXème siècle, les naturalistes français rejettent les lois de Mendel – incompatibles avec la transmission des caractères acquis – ainsi que le darwinisme, et plus encore le néo darwinisme, auquel ils substituent le néo-lamarckisme : en 1909 une statue de Lamarck (pourtant si vilipendé de son vivant) est solennellement inaugurée à l'entrée du Jardin des Plantes<sup>1</sup>.

Pourtant, un *outsider* génial, Lucien Cuénot, professeur de zoologie à Nancy, démontre en 1902 que les lois de Mendel s'appliquent non seulement aux plantes mais aussi aux animaux, attestant ainsi leur caractère universel. Entre le début du siècle et les années 50, le dialogue entre généticiens fondamentaux et cliniciens a longtemps tardé à se nouer. Ceux-ci, par des études sémiologiques minutieuses, individualisent de nombreux syndromes éponymes : Duchenne, Bourneville, Gilles de la Tourette, Marfan, sans que la génétique clinique ne soit reconnue. La génétique des populations et la génétique physiologique, en revanche, progressent grâce à des mathématiciens comme L'Héritier, Malécot et des biologistes de niveau international comme Ephrussi et quelques autres.

En 1965, le Prix Nobel de physiologie et médecine est attribué à trois chercheurs de l'Institut Pasteur : Lwoff, Monod et Jacob. Par des voies détournées, leurs travaux venaient combler le retard de la France en génétique. Entre l'ADN dont la structure était découverte en 1953 et la synthèse des protéines subsistait une inconnue de taille : comment le message génétique était-il régulé et traduit en protéines ? En étudiant les mécanismes de la lysogénie, la cartographie du chromosome bactérien et la régulation génétique des virus et des enzymes, ces pastoriens parvenaient à expliquer l'essentiel des mécanismes de régulation, avec l'élaboration du « modèle opéron » et la présence de gènes régulateurs. La génétique moléculaire devenait une science à part entière, et révolutionnait profondément la biologie. Cette réussite s'expliquait en partie par la structure particulière de l'Institut Pasteur, lieu d'échanges entre le « grenier » où travaillait Lwoff et le rez-de-chaussée où se trouvait le laboratoire de Monod. Elle tenait aussi à la personnalité exceptionnelle et complémentaire de ces « trois mousquetaires » - comme les appelle l'historien philosophe Michel Morange<sup>2</sup>, - transcendée par la période de l'occupation, leur action dans la résistance pour les deux premiers et pour le plus jeune, François Jacob, son engagement à 20 ans dans les Forces Françaises Libres.

Sans doute la complexité de leur découverte dissuade-t-elle de la mentionner parmi les grandes avancées de la génétique : elle est absente, entre autres, de la *timeline* du *Genetics and Medicine Historical Network* britannique.

Pendant la période de l'occupation, au sein du Comité Médical de la Résistance, un grand mandarin, le pédiatre Robert Debré, projette de développer la recherche médicale française. Dès 1945, à l'hôpital des Enfants Malades, il introduit les premiers laboratoires de recherche (Georges Schapira en pathologie moléculaire) et obtient des Bourses pour une spécialisation des meilleurs étudiants à l'étranger. En 1947, la Société Française de Génétique est créée, avec Maurice Lamy, un de ses élèves et des fondamentalistes. C'est alors que la discipline Génétique commence à avoir droit de cité en médecine et dans l'Université française.

---

<sup>1</sup> Loison L. La statue de Lamarck. Cahiers François Viète 2010 II, 2, 15-20.

<sup>2</sup> Morange M. Les mousquetaires de la nouvelle biologie. Pour la science 2002 n°10.

# RECUEIL DES COMMUNICATIONS ORALES & DES SESSIONS SIMULTANÉES

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

Congrès et Expositions de Bordeaux - allée Louis Ratabou - 33300 Bordeaux



# Communications Orales en Session Plénière

## Session Plénière 1

**CO01/#622**

### Le complexe Polycomb PRC2 : un acteur majeur de la tumorigenèse associée à la neurofibromatose de type 1

Eric Pasmant (1,4), Armelle Luscan (1,4), Eline Beert (2), Thomas De Raedt (3), Ingrid Laurendeau (4), Ivan Bièche (4), Meena Upadhyaya (5), Hilde Brems (2), Nicolas Ortonne (6), Karen Leroy (6), Béatrice Parfait (1,4), Pierre Wolkenstein (7), Dominique Vidaud (1,4), Eric Legius (2), Karen Cichowski (3), Michel Vidaud (1,4)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
2. Department of Human Genetics, Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgique
3. Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston, USA
4. UMR\_S745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
5. Institute of Medical Genetics, Cardiff University, Cardiff, Royaume-Uni
6. Département de Pathologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
7. Département de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

**Auteur correspondant :** Pasmant Eric (eric.pasmant@gmail.com)

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est une maladie héréditaire fréquente (1 naissance sur 3 000 ; 20 000 patients atteints en France) résultant de mutations constitutionnelles hétérozygotes du gène NF1 codant la neurofibromine, régulateur négatif majeur de la voie RAS/MAPK. La NF1 est caractérisée en particulier par l'apparition de neurofibromes (tumeurs bénignes des gaines nerveuses) qui peuvent se transformer en MPNSTs (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumours), tumeurs malignes de mauvais pronostic et première cause de mortalité. Aucune influence du type de mutation du gène NF1 sur le phénotype n'a été mise en évidence (Sabbagh et al. 2013), à l'exception d'un phénotype plus sévère retrouvé chez les patients porteurs de grandes délétions récurrentes de l'ensemble du locus NF1 (> 1 Mb) qui présentent notamment un risque accru de développer des MPNSTs. Parmi les gènes co-délétés avec le gène NF1 figure le gène SUZ12 (Suppressor of Zeste 12 homolog) qui appartient au complexe multiprotéique PRC2 qui induit une répression transcriptionnelle via la tri-méthylation de la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27me3). Plusieurs arguments nous ont conduits à tester l'implication du gène SUZ12 et des autres membres du PRC2. La protéine SUZ12 interagit avec le grand ARN non codant ANRIL, gène modificateur de la tumorigenèse associée à la NF1 (Pasmant et al. 2011) et récemment, des mutations somatiques perte de fonction du PRC2 ont été décrites dans plusieurs types de cancers. Dans le cadre d'une collaboration internationale, un panel de 49 MPNSTs a été testé par CGH-array 400K et NGS ciblé sur les 14 gènes impliqués dans la méthylation la lysine 27 de l'histone H3. Des altérations homozygotes du PRC2 ont identifiées dans 84% (16/19) des MPNSTs provenant de patients porteurs d'une grande délétion constitutionnelle du locus NF1 et 37% (11/30) des MPNSTs provenant de patients porteurs d'une mutation constitutionnelle restreinte au gène NF1. La perte de la marque épigénétique H3K27me3 a été confirmée par IHC au sein des MPNSTs mutés. L'étude, par l'équipe de Karen Cichowski, d'un modèle murin KO en cis pour les gènes NF1 et SUZ12 a confirmé le rôle majeur du complexe PRC2 dans la tumorigenèse associée à la NF1 et démontré la pertinence de thérapies fondées sur l'utilisation combinée d'inhibiteurs de la voie RAS/MAPK et de molécules modulant l'épigénétique.

**Mots-clefs :** Neurofibromatose de type 1, NF1, Suppressor of Zeste 12 homolog, SUZ12, Polycomb Repressive Complex 2, PRC2

**CO02/#347**

### Les mutations des gènes CNTNAP1 et ADCY6 sont responsables d'arthrogryposes multiples congénitales associées à des défauts axoniaux

Annie Laquérière (1), Jérôme Maluenda (2), Adrien Camus (2), Laura Fontenas (3), Klaus Dieterich (4), Flora Nolent (2), Jié Zhou (2), Nicole Monnier (5), Philippe Latour (6), Damien Gentil (1), Delphine Héron (7), Isabelle Desguerres (8), Pierre Landrieu (9), Claire Beneteau (10), Benoit Delaporte (11), Céline Bellesme (12), Clarisse Baumann (13), Yline Capri (13), Alice Goldenberg (14), Stanislas Lyonnet (15), Dominique Bonneau (16), Brigitte Estournet (17), Susana Quijano-Roy (17), Christine Francannet (18), Sylvie Odent (19), Marie Helene Saint-Frison (20), Sabine Sigaudy (21), Dominique Figarella-Branger (22), Antoinette Gelot (23), Jean-Marie Mussini (24), Catherine Lacroix (25), Valerie Drouin-Garraud (14), Marie-Claire Malinge (16), Tania Attié-Bitach (15), Bettina Bessieres (26), Maryse Bonniere (26), Ferechte Encha-Razavi (26), Anne Marie Beaufrere (28), Suonary Khung-Savatovsky (28), Marie José Perez (29), Alexandre Vasiljevic (30), Sandra Mercier (31), Joelle Roume (32), Laetitia Trestard (33), Pascale Saugier-Verber (34), Marie-Pierre Cordier (35), Valérie Layet (36), Marine Legendre (37), Adeline Vigouroux-Castera (38), Joel Lunardi (5), Monica Bayes (39), Pierre S Jouk (4), Luc Rigonnot (40), Michèle Granier (41), Damien Sternberg (42), Josiane Warszawski (43), Ivo Gut (39), Marie Gonzales (44), Marcel Tawk (3), Judith Melki (2,45)

1. Pathology Laboratory and NeoVasc Region-Inserm Team ERI28, CHU de Rouen, Rouen, France
2. UMR-788 and UMR-986, Inserm and University Paris 11, Le Kremlin Bicêtre, France
3. UMR-788, Inserm and University Paris 11, Le Kremlin Bicêtre, France
4. Département de Génétique, CHU Grenoble, Grenoble, France
5. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France
6. Service de Neurobiologie, Hopitaux de Lyon, Bron, France
7. Département de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Unité de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
9. University Paris 11, Hopital Bicetre, Le Kremlin Bicêtre, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
11. Service de Pédiatrie Néonatale, CH Havre, Le Havre, France
12. Service de Neuropédiatrie, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
13. Département de Génétique, Hopital Robert Debré, Paris, France
14. Service de Génétique Clinique, CHU Rouen, Rouen, France
15. Département de Génétique et INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
16. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
17. Service de Pédiatrie et Réanimation infantile, Hopital R Poincaré, Garches, France
18. Unité de Génétique Médicale, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
19. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
20. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CH Argenteuil, Argenteuil, France
21. Département de Génétique Médicale, CHU de La Timone, Marseille, France
22. Service d'Anatomie Pathologique et de Neuropathologie, CHU de La Timone, Marseille, France
23. Service de Neuropathologie, Hopital Trousseau, Paris, France
24. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU de Nantes, Nantes, France
25. Laboratoire de Neuropathologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
26. Service d'Histo-Embryologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
27. Service d'Anatomie et Cytopathologies, CHU Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
28. Unité de Foetopathologie, Hopital Robert Debré, Paris, France
29. Département Génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
30. Centre de Pathologie Est, Hopitaux de Lyon, Bron, France
31. Unité de Génétique clinique, CHU Nantes, Nantes, France
32. Unité de Génétique Médicale, CH de Poissy, Poissy, France
33. Unité de Génétique, Hopital du Belvédère, Mont-Saint-Aignan, France
34. Service de Génétique, CHU Rouen, Rouen, France
35. Unité de Génétique Clinique, Hopitaux de Lyon, Bron, France
36. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, CH Havre, Le Havre, France
37. Service de Génétique Clinique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
38. Service de Génétique Médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France

39. Centro Nacional de Análisis Genómico, Centro Nacional de Análisis Genómico, Barcelona, Espagne
40. Service d'Obstétrique, CH Sud-Francilien, Corbeil Essonnes, France
41. Service de Médecine Néonatale, CH Sud-Francilien, Corbeil Essonnes, France
42. Laboratoire de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
43. UMR-1018, Inserm et Université Paris 11, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
44. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
45. AP-HP, Hôpital Bicêtre, Unité de Génétique Médicale, Le Kremlin-Bicêtre, CHSF, 91108 Corbeil Essonnes, France

**Auteur correspondant :** Melki Judith (judith.melki@inserm.fr)

Les arthrogryposes multiples congénitales non syndromiques (AMC) sont caractérisées par des rétractions articulaires multiples dues à une réduction de la mobilité fœtale. Les AMC sont cliniquement et génétiquement très hétérogènes. Une analyse génomique associant une cartographie génétique et le séquençage de l'exome entier a été réalisée chez 31 familles multiplex et/ou consanguines atteintes d'AMC non diagnostiquées. Si cette approche a permis l'identification de mutations pathogéniques dans des gènes connus pour être responsables d'AMC chez 19 familles (61%), nous rapportons des mutations pathogéniques dans deux nouveaux gènes. Des mutations homozygotes conduisant à un décalage du cadre de lecture et un codon stop prématuré du gène CNTNAP1 ont été identifiées chez 4 familles non apparentées. Les patients ont en commun une AMC de topographie distale, de survenue tardive pendant la grossesse et conduisant à une forme néonatale très sévère conduisant au décès dans les 3 premiers mois de vie. Les vitesses de conduction nerveuse motrice sont très abaissées et l'examen en microscopie électronique (ME) du nerf périphérique a révélé des anomalies marquées des nœuds de Ranvier et de la myéline périphérique. Le gène CNTNAP1 code la protéine CASPR, un composant essentiel des domaines Ranvier, une structure essentielle à la conduction saltatoire des potentiels d'action le long des axones myélinisés.

Chez une autre famille multiplex et consanguine, une mutation faux-sens homozygote a été identifiée dans le gène ADCY6. Le phénotype clinique est très similaire aux familles porteuses de mutations de CNTNAP1. L'analyse en ME du nerf périphérique a révélé l'absence de myéline. Le knockdown des gènes orthologues chez le zebrafish conduit à l'absence de myéline périphérique alors que les cellules Schwann sont bien présentes et que la myéline centrale est normale. ADCY6 code une protéine appartenant à la famille des adénylate cyclases impliquées dans la synthèse de l'AMPc. In vitro, l'élévation de l'AMPc stimule les signaux de myélinisation suggérant que ADCY6 est impliquée dans la myélinisation du nerf périphérique via cette voie de signalisation. Cette étude a donc permis d'identifier de nouveaux mécanismes pathogéniques dans les AMC à savoir le développement ou la différenciation de la myéline du système nerveux périphérique. Cette étude met aussi l'accent sur l'intérêt des nouvelles technologies de la génomique dans le diagnostic génétique des AMC. En effet, en incluant les gènes AMC déjà connus et les deux nouveaux gènes identifiés dans cette étude, un diagnostic moléculaire a été établi dans 75% des cas.

**Mots-clefs :** arthrogrypose multiple congénitale, séquençage de l'exome entier, gènes axogliaux

**CO03/#700**

## Spectre anténatal de la maladie de Fanconi : à propos de 15 observations fœtales.

Asma OMARJEE (1), Fabien GUIMIOT (2), Brigitte LEROY (3), Bettina BESSIERES (1), Julia TANTAU (4), Catherine FALLET-BIANCO (5), Marie-France PORTNOI (6), Marie-Paule BEAUJARD (1), Céline DUPONT (7), Bruno DELOBEL (8), Sonia BOUQUILLON (9), Géraldine VIOT (10), Odile BOUTE (11), Sylvie MANOUVRIER (11), Florence PETIT (11), Dominique

- STOPPA-LYONNET (12), Jean SOULIER (13), Tania ATTIE-BITACH (1), Joelle ROUME (14), Louise DEVISME (15), Laurence LOEILLET (3)
1. Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHI Poissy/St Germain-en-Laye, Poissy, France
4. Fœtopathologie et anatomie pathologique pédiatrique, Hôpital Cochin-Port-Royal, APHP, Paris, France
5. Neuropathologie, Hôpital Sainte Anne, Paris, France
6. Service de Génétique, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
7. Cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
8. Centre de génétique chromosomique, GH de l'Institut Catholique de Lille, Lille, France
9. Cytogénétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
10. Génétique, Hôpital Cochin-Port-Royal, APHP, Paris, France
11. Service de génétique clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
12. Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
13. Laboratoire d'hématologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
14. Génétique Médicale, CHI Poissy/St Germain-en-Laye, Poissy, France
15. Pôle de Pathologie, Centre de Biologie Pathologie, Lille, France

**Auteur correspondant :** ATTIE-BITACH Tania (tanie.attie@inserm.fr)

La maladie de Fanconi (MF) est une maladie autosomique récessive ou liée à l'X associant malformations congénitales, aplasie médullaire, et prédisposition aux hémopathies et tumeurs solides. Sa prévalence est estimée à 1/300 000 naissances et la fréquence d'hétérozygotie est estimée à 1/300. Les malformations congénitales, présentes dans 75% des cas touchent plusieurs organes avec une grande variabilité phénotypique. Certaines malformations peuvent être détectées par l'échographie prénatale, en particulier les anomalies squelettiques, rénales, cardiaques et digestives. En anténatal, la porte d'entrée dans cette pathologie est essentiellement l'atteinte bilatérale du rayon radial avec un caryotype standard normal, ou plus rarement une hydrocéphalie. A notre connaissance, une seule description fœtopathologique de MF a été rapportée à ce jour.

Nous rapportons 15 observations fœtales de MF issues de 10 familles, allant de 13SA à 34SA, chez qui le diagnostic a été réalisé par 1/ la mise en évidence de cassures chromosomiques sur sang fœtal ou cultures ; 2/ et/ou d'un test d'ubiquitination de FANCD2 ; 3/ l'analyse moléculaire identifiant les mutations d'un des gènes FANCD1 (7/9, 2 en cours d'analyse). Dans 10 cas, un fœtus était le cas index, et dans cinq cas, il s'agissait de récurrence dans un contexte d'antécédent familial. Parmi les signes d'appels échographiques, l'anomalie du rayon radial était le signe d'appel le plus fréquent, le plus souvent isolé, plus rarement dans le cadre d'un syndrome polymalformatif. Les autres signes d'appels ont été une hydrocéphalie, une tumeur cérébrale, et un RCIU dans un cas suivi d'une mort fœtale in utero. Au terme de l'examen fœtopathologique (EFP) réalisé 14/15 (un refus d'autopsie, avec examen macroscopique et radiographies uniquement), dans 3 cas l'agénésie radiale est restée isolée, dans 5 cas les fœtus présentaient un phénotype VACTERL-like et les autres présentaient des signes de ce spectre ou d'autres qui seront présentés.

Les manifestations cliniques de la MF se recoupent avec celles de nombreux syndromes malformatifs (Trisomie 18, Holt-Oram, Okhiro, Baller-Gerold, Roberts, TAR, Cornelia de Lange, embryopathie au valproate, association VACTERL...) rendant le diagnostic parfois difficile. Dans les phénotypes VACTERL-like, il est indispensable de faire le diagnostic de MF en raison du pronostic plus réservé, et du risque de récurrence différent. Lorsque le diagnostic est réalisé en anténatal par la recherche sur sang fœtal de cassures chromosomiques spontanées et induites, l'EFP permet d'orienter l'analyse moléculaire en raison de l'existence d'une corrélation phénotype-génotype, la forme « VACTERL-like » étant en effet majoritairement liée à une mutation des gènes FANCB, FANCA, FANCD1 et FANCD2. L'identification de la mutation permet d'assurer un conseil génétique adapté, et de proposer un diagnostic prénatal moléculaire en cas de nouveau projet parental.

**Mots-clefs :** Maladie de Fanconi, agénésie radiale, Cassures chromosomiques



CO04/#181

**Stratégies de discrimination entre deux SNPs dans les études d'association génétiques : études cas-témoins et études familiales**

Claire DANDINE-ROULLAND (1), Françoise CLERGET-DARPOUX (2), Hervé PERDRY (1)  
1. Université Paris-Sud 11 UMR-669, INSERM U669, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France  
2. INSERM U781, Hôpital Necker, Paris, France

**Auteur correspondant :** DANDINE-ROULLAND Claire  
(claire.dandine@gmail.com)

Les études d'association permettent de mettre en évidence des signaux d'association entre des polymorphismes d'un seul nucléotide (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) et une maladie. Après avoir obtenu les SNPs associés à la maladie, la difficulté est de déterminer, sous l'hypothèse que le ou les variants causaux sont parmi les SNPs observés, quels SNPs sont causaux et quels autres ne sont associés que parce que corrélés avec un SNP causal. Nous avons donc étudié une procédure de discrimination entre deux SNPs corrélés dans le but de déterminer, parmi ces deux SNPs, celui qui est causal.

Nous avons étudié en détail la procédure de discrimination entre deux SNPs corrélés proposée par Udler et coll. (Genetic Epidemiology, 34, 2010). Dans cette procédure, les auteurs considèrent une statistique de test d'association construite dans un modèle génétique multiplicatif sur un locus et avec des données cas-témoins. La différence des valeurs de cette statistique aux deux locus considérés est comparée à un seuil fixé à l'avance. Si cette différence est plus grande que ce seuil, on peut conclure à la causalité du locus avec l'association la plus significative.

Nous avons alors adapté cette procédure à des données familiales en prenant comme statistique de test d'association un score correspondant au même modèle génétique mais avec des données familiales (Perdry et coll., Human Heredity, 74, 2012). Ainsi, nous avons pu comparer les deux procédures de discrimination et mettre en évidence l'avantage apporté par le gain d'information des données familiales.

Nous avons également regardé une application à la sclérose en plaques sur des génotypes de 26 tag-SNPs du gène IL2RA impliqué dans la réponse auto-immunitaire (Babron et coll., European Journal of Human Genetics, 20, 2011). Ces génotypes sont ceux de familles françaises nucléaires ayant au moins un enfant atteint de la sclérose en plaques. Plus précisément, l'échantillon est composé de 523 familles trio (avec un enfant malade) et 101 familles avec plus d'un enfant malade. Les données familiales font alors ressortir un SNP en particulier, rs3118470.

Nous remercions l'Arsep et le Refgensep pour l'utilisation de ces données.

**Mots-clefs :** Etudes d'association, Puissance, Données familiales

CO05/#63

**Calcifications idiopathiques des noyaux gris centraux : gènes causaux, mécanismes physiopathologiques et spectre phénotypique.**

Gaël Nicolas (1), Cyril Pottier (1), Camille Charbonnier (1), Lucie Guyant-Maréchal (2), Isabelle Le Ber (3), Jérémie Pariente (4), Pierre Labauge (5), Xavier Ayrignac (5), Luc Defebvre (6), David Maltete (7), Olivier Martinaud (7), Romain Lefaucheur (7), Olivier Guillin (8), David Wallon (7), Boris Chaumette (8), Philippe Rondepierre (9), Nathalie Derache (10), Guillaume

Fromager (10), Stéphane Schaeffer (10), Pierre Krystkowiak (11), Christophe Vemy (12), Snezana Jurici (13), Mathilde Sauvée (14), Marc Vérin (15), Thibaud Lebouvier (16), Olivier Rouaud (17), Christel Thauvin-Robinet (18), Stéphane Rousseau (1), Anne Rovelet-Lecru (1), Thierry Frébourg (2), Dominique Campion (1), Didier Hannequin (7)

1. Département de Génétique, Inserm U1079, Rouen, France
2. Département de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
3. Inserm UMR\_S975, Univ Paris 06, Paris, France
4. Neurologie, CHU Purpan, Toulouse, France
5. Neurologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. Neurologie, CHU de Lille, Lille, France
7. Neurologie, CHU de Rouen, Rouen, France
8. Psychiatrie universitaire, CH du Rouvray, Sotteville-lès-Rouen, France
9. Neurologie, CH de Dreux, Dreux, France
10. Neurologie, CHU de Caen, Caen, France
11. Neurologie, CHU d'Amiens, Amiens, France
12. Neurologie, CHU d'Angers, Angers, France
13. Neurologie, CH de Perpignan, Perpignan, France
14. Neurologie, CHU de Nancy, Nancy, France
15. Neurologie, CHU de Rennes, Rennes, France
16. Neurologie, CHU de Nantes, Nantes, France
17. Neurologie, CHU de Dijon, Dijon, France
18. Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France

**Auteur correspondant :** Nicolas Gaël (gaelnicolas@hotmail.com)

Les calcifications idiopathiques des noyaux gris centraux (Idiopathic Basal Ganglia Calcification, IBGC) représentent une entité clinico-radiologique caractérisée par la présence de dépôts phosphocalciques dans et autour des microvaisseaux cérébraux, un mode de transmission autosomique dominant, une hétérogénéité génétique et une diversité d'expression clinique. Les trois premiers gènes causaux ont été très récemment identifiés. Les mutations perte de fonction de SLC20A2 pourraient perturber le métabolisme du phosphate inorganique dans le cerveau. Nous avons récemment identifié un second gène causal, PDGFRB, qui code pour le récepteur transmembranaire PDGFRβ (Platelet Derived Growth Factor Receptor β). Des mutations perte de fonction de PDGFRB ont été ensuite identifiées. PDGFRB code pour PDGF-B, facteur de croissance pour les cellules de la lignée mésenchymateuse, et dont le récepteur principal est PDGFRβ. Les souris avec perte de fonction de la voie PDGF-B/PDGFRβ sont un modèle d'altération de la barrière hémato-encéphalique, mécanisme responsable des calcifications. Nous décrivons les données génétiques, physiopathologiques et rapportons la description phénotypique de la plus large série de patients avec IBGC publiée, première série depuis l'identification du premier gène causal en 2012. Les patients, recrutés dans plusieurs centres français, étaient inclus s'ils présentaient des calcifications affectant au minimum les noyaux lenticulaires et dont la sévérité, jugée à l'aide d'une échelle visuelle originale, était supérieure à un seuil dépendant de l'âge préalablement défini à l'aide d'une série de 600 contrôles. Un bilan étiologique extensif permettait d'exclure les diagnostics différentiels. Un total de 72 patients répondait au diagnostic d'IBGC, dont 35 présentaient une mutation dans SLC20A2 (2 familles, 4 cas sporadiques), PDGFRB (1 famille, 2 cas sporadiques), ou PDGFRB (1 famille, 1 cas sporadique). Six mutations étaient nouvelles, dont une mutation de novo dans PDGFRB. Soixante et onze pour cent des patients étaient symptomatiques (âge moyen de début clinique : 39 ± 20 ans). Parmi eux, les signes les plus fréquents étaient les troubles cognitifs (58,8%), les signes psychiatriques (56,9 %) et les troubles du mouvement (54,9%). L'analyse scannographique a révélé que le score total de calcification (TCS) augmentait avec l'âge, plus rapidement chez les patients avec IBGC que les contrôles. Le TCS attendu était plus élevé chez les porteurs de mutation SLC20A2 que PDGFRB, au-delà de l'effet du seul âge. Aucun patient avec mutation PDGFRB ou PDGFRB ne présentait de calcification corticale ou du vermis, contrairement à une majorité de patients avec mutation SLC20A2. Le TCS était plus sévère chez les personnes symptomatiques, mais ne permettait pas de prédire, seul, le statut des patients. Nous confirmons la diversité clinique ainsi que la diversité radiologique, avec un pattern de calcifications qui semble lié à la voie biologique.

**Mots-clefs :** Calcifications, SLC20A2, PDGFRB

CO06/#128

## DEPDC5, un gène fréquent dans les épilepsies familiales focales

Fabienne Picard (1), Periklis Makrythanasis (2), Vincent Navarro (3), Saeko Ishida (3), Julitta de Bellescize (4), Dorothee Ville (5), Sarah Weckhuysen (6), Erwin Fosselle (7), Arvid Suls (8), Peter De Jonghe (8), Maryline Vasselon Raina (9), Gaetan Lesca (10), Christel Depienne (11), Isabelle An-Gourfinkel (3), Mihaela Vlaicu (3), Michel Baulac (3), Emeline Mundwiller (3), Philippe Couarch (3), Romina Combi (12), Luigi Ferini-Strambi (13), Antonio Gambardella (14), Stylianos Antonarakis (2), Eric Leguern (3), Ortrud Steinlein (15), Stéphanie Baulac (3)

1. Department of Neurology, University Hospitals of Geneva, Geneva, Suisse
2. Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva, Geneva, Suisse
3. ICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Epilepsy, Sleep and Pediatric Neurophysiology, University Hospitals of Lyon, Lyon, France
5. centre de référence "déficiences intellectuelles de causes rares" et "sclérose tubéreuse de Bourneville", Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Department of Molecular Genetics, University of Antwerp, Anvers, Belgique
7. Algemeen Stedelijk Ziekenhuis, Aalst, Aalst, Belgique
8. Neurogenetics group, University of Antwerp, Anvers, Belgique
9. Centre hospitalier général de Valence, Centre hospitalier général de Valence, Valence, France
10. Department of Medical Genetics, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. I, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
12. Department of Surgery and Interdisciplinary medicine, University of Milano-Bicocca, Milan, Italie
13. Sleep Disorders Center, University Vita-Salute San Raffaele, Milan, Italie
14. Institute of Neurological Sciences, National Research Council, Mangone-Cosenza, Italie
15. Institute of Human Genetics, University of Munich, Munich, Allemagne

**Auteur correspondant :** Baulac Stéphanie (stephanie.baulac@upmc.fr)

L'épilepsie affecte ~1% de la population mondiale et se caractérise par des crises spontanées et récurrentes, qui peuvent être focales ou généralisées. Plusieurs rares syndromes d'épilepsies focales de transmission autosomique dominante ont été décrits: l'épilepsie frontale nocturne autosomale dominante (EFNAD), l'épilepsie familiale du lobe temporaire et l'épilepsie familiale focale avec foyer variable.

Récemment, grâce au séquençage de l'exome, nous avons identifié des mutations hétérozygotes du gène DEPDC5 (DEP domain containing protein 5) dans 6/16 familles d'épilepsies focales familiales (frontales, temporales ou avec foyer variable). La protéine DEPDC5 régule négativement le complexe mTORC1 (target of rapamycin), qui régule de nombreuses fonctions cellulaires dont la prolifération, la survie, la synthèse protéique et la transcription.

L'objectif de cette étude était de poursuivre la caractérisation du spectre mutationnel du gène DEPDC5, d'étudier l'effet des mutations et d'aborder la compréhension des mécanismes physiopathologiques dans les lymphoblastes des patients mutés.

Nous avons étudié la prévalence des mutations de DEPDC5 dans une cohorte constituée de 30 familles avec EFNAD. Quatre mutations de DEPDC5 ont été retrouvées: une mutation dans un site accepteur d'épissage (c.2355-2A>G) et trois mutations nonsense p.Arg487\*, p.Arg1087\* et p.Trp1369\*. Nous avons montré à partir des cultures de lymphoblastes de patients mutés que les transcrits DEPDC5 porteurs des mutations p.Arg487\* et p.Arg1087\* sont dégradés par le NMD (nonsense mediated mRNA decay). L'identification de mutations nonsense ciblées par le NMD suggère un mécanisme d'haploinsuffisance. Le rôle de DEPDC5 dans l'épilepsie est encore inconnu, mais l'implication de cette protéine dans la régulation négative de mTORC1 dans des cellules de mammifères et chez la levure *S. cerevisiae* offre des pistes particulièrement attrayantes. En effet, plusieurs gènes de la régulation de mTOR, dont STRADA, TSC1, TSC2 sont mutés dans

des syndromes de malformation cortical associés à de l'épilepsie. L'objectif est de préciser le rôle de DEPDC5 dans la voie mTOR en lien avec l'épilepsie. Nous avons pour cela évalué l'activité de mTORC1, par la détection de l'état de phosphorylation de son substrat S6K1 dans les lymphoblastes de patients porteurs de mutations dans DEPDC5.

**Mots-clefs :** épilepsie, autosomique dominant, mTOR

## Session Plénière 2

CO07/#113

## Vers une stratégie d'immunothérapie cellulaire adoptive personnalisée ciblant des néo-antigènes immunogènes dans les cancers colorectaux à instabilité microsatellitaire

Pauline Maby (1), Mohamad HAMIEH (1), David TOUGERON (2), Nicolas ELIE (3), Florence LE PESSOT (4), Emilie FAUQUEMBERGUE (1), Jacques MAUILLON (5), Richard SESBOÛE (1), Thierry FREBOURG (1), Jean-Baptiste LATOUCHE (1)

1. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, ROUEN, France
2. Service d'Hépatogastroentérologie, CHU de Poitiers, Poitiers, France
3. Plateforme d'Imagerie, CMABIO, CHU de Caen, Caen, France
4. Service d'Anatomopathologie, CHU de Rouen, ROUEN, France
5. Département de Génétique, CHU de Rouen, ROUEN, France

**Auteur correspondant :** Maby Pauline (pauline.maby@hotmail.fr)

Les cancers colorectaux (CCR) à instabilité microsatellitaire (MSI+) représentent 15% des CCR et se développent chez les patients jeunes présentant un syndrome de Lynch. Les CCR MSI+ ont un meilleur pronostic et se caractérisent par un infiltrat de lymphocytes T cytotoxiques (LTC) plus dense que les CCR MSI-. Il est couramment admis que, dans ces cancers, les mutations décalant le cadre de lecture de gènes contenant des séquences répétées codantes pourraient être à l'origine de la synthèse de néo-antigènes, exprimés uniquement par les cellules tumorales et reconnus par des LTC spécifiques. Cependant l'existence de LTC anti-tumoraux spécifiques de ces néo-antigènes au sein des tumeurs MSI+ n'a à ce jour pas été clairement établie. Dans un premier temps, nous avons quantifié dans 88 tumeurs la densité de ces LTC (CD8+) sur des puces tissulaires («tissue microarrays») et nous avons analysé les mutations décalant le cadre de lecture dans 19 gènes contenant des séquences répétées codantes, grâce à 2 PCR multiplexes réalisées sur le tissu tumoral et non tumoral. Cette analyse a révélé que la densité des lymphocytes T (LT) CD8+ intra-tumoraux augmentait significativement avec le nombre de mutations décalant le cadre de lecture, suggérant fortement l'existence de LTC spécifiques des néo-antigènes issus de ces mutations, LTC qui pourraient être à l'origine du développement de nouvelles stratégies d'immunothérapie efficaces. En se basant sur ces résultats, nous avons mis au point une approche d'immunothérapie cellulaire adoptive personnalisée consistant, dans un premier temps, à caractériser les mutations décalant le cadre de lecture présentes dans la tumeur d'un patient donné en réalisant un scanning des mutations frameshift dans la tumeur et, dans un second temps, à stimuler les LT, du sang périphérique de ce patient, spécifiques de néo-peptides issus de ces mutations, à l'aide de Cellules Présentatrices d'Antigène Artificielles (CPAA) développées au laboratoire. Après deux stimulations, les LT activés de deux patients présentant un syndrome de Lynch étaient effectivement capables de lyser spécifiquement des cellules tumorales dérivées de CCR MSI+ présentant ces peptides. Ces données précliniques démontrent la faisabilité de développer des nouvelles stratégies d'immunothérapie cellulaire adoptive

personnalisées, ciblant des néo-antigènes tumoraux immunogènes issus de mutations spécifiques du tissu tumoral, dans les CCR MSI+, notamment chez des patients jeunes présentant un syndrome de Lynch.

**Mots-clés :** cancers colorectaux, instabilité microsatellitaire, immunothérapie

## CO08/#312

### Challenges et succès du diagnostic préconceptionnel, préimplantatoire, et prénatal des mutations de l'ADN mitochondrial

Julie STEFFANN (1), Nadine GIGAREL (1), Sophie MONNOT (1), Pauline VACHIN (1), Elodie HERZOG (1), Philippe BURLET (1), Nelly FRYDMAN (2), Alexandra BENACHI (3), Gihad CHALOUHI (4), Jelena MARTINOVIC (5), Vincent PROCCACIO (6), Benoit FUNALOT (1), Yves VILLE (4), René FRYDMAN (1), Agnès ROTIG (1), David C SAMUELS (7), Arnold MUNNICH (1), Jean-Paul BONNEFONT (1)

1. Service de génétique et unité INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. Service de Biologie et Génétique de la Reproduction, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France
3. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France
4. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
5. Service de Foetopathologie, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France
6. Service de génétique, CHU d'Angers, Angers, France
7. Center for Human Genetics research, Vanderbilt University, Nashville, USA

**Auteur correspondant :** Steffann Julie (julie.steffann@inserm.fr)

Les mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont responsables de maladies sévères à expression polymorphe, à hérédité maternelle, avec un risque élevé de transmission à la descendance des femmes porteuses. En raison de l'absence de traitement de ces affections, les couples à risque de transmettre une telle mutation font souvent la demande de diagnostic prénatal (DPN) ou préimplantatoire (DPI). Ces procédures sont fondées sur la mesure d'un «taux de mutation» (hétéroplasmie = coexistence de molécules d'ADNmt sain et mutées) dans la cellule ou le tissu accessible [premier globule polaire (GP1) dans le cadre du diagnostic préconceptionnel (DPC), blastomère dans le cadre du DPI ou tissu fœtal dans le cadre du DPN]. L'éventualité de variations du taux d'hétéroplasmie dans les différentes cellules ou tissus embryo-fœtaux, ou au cours de la grossesse, ont limité jusqu'alors le recours à ces procédures.

Nous rapportons notre expérience de 10 ans de DPC/DPI/DPN chez des patientes porteuses d'une mutation de gènes mitochondriaux codant pour les sous-unités ATP6 (m.8993T>G/C, m.9185T>C), ND3 (m.10197G>A), ND5 (m.12706T>C, m.13513G>A), ND6 (m.14459G>A, m.14487T>C), et pour les tRNA Leu1 (m.3243A>G), ou Lys (m.8344A>G). Les taux de mutation ont été mesurés dans 46 GP1, 19 ovocytes, 52 embryons préimplantatoires, 48 fœtus, et 11 placentas entiers.

Le DPC n'est pas une approche pertinente en raison de la possible discordance (jusqu'à 30 %) des taux d'hétéroplasmie entre le GP1 et l'ovocyte. A l'inverse, la stabilité des taux d'hétéroplasmie parmi les différents blastomères d'un embryon à J3 post-fécondation, témoigne de la fiabilité du DPI réalisé sur 1 ou 2 blastomères. L'analyse des taux d'hétéroplasmie dans de multiples tissus prélevés sur 16 fœtus, après interruption médicale de grossesse, a montré une stabilité intertissulaire des taux de mutation, y compris dans les amniocytes. Par contre, la mesure des taux d'hétéroplasmie dans de multiples échantillons prélevés sur 11 placenta a montré des variations intra-placentaires importantes du taux d'hétéroplasmie, pouvant atteindre 50 %. Ces variations amènent à reconsidérer la pertinence de l'utilisation de villosités choriales pour le DPN de mutations de l'ADNmt. Enfin, une grande stabilité des taux d'hétéroplasmie a été observée chez les 21 fœtus ayant fait l'objet de 2 ou 3 prélèvements à des stades différents de

grossesse. Ces données suggèrent que l'analyse d'un prélèvement unique d'amniocytes est la procédure de choix pour le DPN des mutations de l'ADNmt.

Une question essentielle concerne la valeur prédictive d'un taux de mutation embryofœtal vis à vis du pronostic postnatal. 23 enfants sont nés après DPN/DPI dans notre service. Leur état clinique est normal avec un recul de 1 à 13 ans. Les procédures de DPN/DPI apparaissent donc efficaces pour prévenir la naissance d'enfants atteints de mitochondriopathie et constituent une alternative réaliste aux procédures de transfert nucléaire ou cytoplasmique.

**Mots-clés :** cytopathie mitochondriale, ADN mitochondrial, syndrome de Leigh, NARP, MELAS

## CO09/#318

### Implémentation d'un algorithme de prédiction de NAHRs et détection de gènes soumis à sélection purifiante

Thomas Karaouzen (1), Laure Sambourg (2), Nicolas Thierry-Mieg (2), Pierre F Ray (3)

1. UJF-Grenoble 1 / CNRS / Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Equipe « Andrologie et Génétique », F 38700, France, Université Joseph Fourier, GRENOBLE, France
2. UJF-Grenoble 1 / CNRS / TIMC-IMAG UMR 5525, Computational and Mathematical Biology (BCM), Grenoble, F-38041, France, Université Joseph Fourier, GRENOBLE, France
3. 1) UJF-Grenoble 1 / CNRS / Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Equipe « Andrologie et Génétique », F 38700, France, Université Joseph Fourier, GRENOBLE, France

**Auteur correspondant :** variations du nombre de copies (CNV) Non Allelic Homologous Recombinations (NAHR) (pray@chu-grenoble.fr)

Les variations du nombre de copies (CNVs) sont des polymorphismes dans lesquels le nombre de copies d'un segment chromosomique est variable entre différents individus d'une même espèce. Plusieurs processus peuvent entraîner ces réarrangements génomiques, notamment les Non Allelic Homologous Recombinations (NAHRs), qui de par leur mécanisme engendrent des CNVs récurrents sur un même locus. Les NAHRs sont le résultat de recombinaisons illégitimes au cours de la méiose entre deux séquences fortement homologues présentes sur un même chromosome. Ces séquences, appelées Low Copy Repeats (LCRs), correspondent à des blocs d'ADN de 10 à 300 Kb présentant une similarité de séquence supérieure à 95%. De ces recombinaisons non-alléliques vont découler la formation d'allèles délétés et d'allèles dupliqués. Cependant les fréquences relatives de ces deux événements ne sont pas identiques. En effet, les NAHRs peuvent se produire entre deux LCRs présents sur : une même chromatide (NAHR intrachromatidienne), deux chromatides sœurs (interchromatidienne), ou entre deux chromatides de chromosomes homologues (interchromosomique). Les recombinaisons interchromosomiques et interchromatidiennes entraînent simultanément la formation d'un allèle délété ET d'un allèle dupliqué; en revanche les recombinaisons intrachromatidiennes entraînent uniquement la formation d'allèles délétés. Théoriquement la fréquence des délétions devrait donc toujours être supérieure à celle des duplications.

Cependant, l'analyse des données de CGH array disponibles dans la base DGV révèle que pour certains NAHRs connus, la fréquence des allèles dupliqués est supérieure à celle des allèles délétés, suggérant une sélection positive de l'allèle dupliqué et/ou une sélection négative de l'allèle délété. L'identification et la caractérisation systématique des NAHRs présentant un excès de duplications pourrait donc permettre d'identifier des loci à fort potentiel sélectif.

Nous avons donc conçu un algorithme dont l'objectif est de prédire parmi les CNVs recensés ceux soumis à NAHR en recherchant de part et d'autre de chaque CNV la présence de LCRs. Pour cela,



nous avons donc blasté entre elles les séquences entourant chaque CNV afin de rechercher des hits partageant au moins 95% de similarité. Dans le cas où plusieurs hits sont trouvés pour un CNV, l'algorithme cherche à agréger ces hits en tenant compte de leur taille et de leur distance physique. Si la longueur du hit final généré dépasse 10Kb, il est considéré comme LCR et le CNV comme étant soumis à NAHR. L'étape suivante consistera à sélectionner parmi ces NAHRs ceux pour lesquels l'allèle dupliqué est en excès.

Les premiers résultats tendent à indiquer qu'environ 10% des CNVs recensés sur DGV seraient soumis à NAHR et que parmi ceux-là, 20% présenteraient un excès de duplication. L'analyse in silico des gènes présents dans ces NAHRs permettra de mettre en évidence des processus biologiques et moléculaires soumis à sélection purifiante.

**Mots-clefs** : variations du nombre de copies (CNV), Non Allelic Homologous Recombinations (NAHR), Natural Selection

## CO10/#49

### Identification du gène C2CD3: la régulation de l'élongation centriolaire, un mécanisme pathogénique émergent des ciliopathies

Christel Thauvin-Robinet (1), Jaclyn S. Lee (2), Estelle Lopez (1), Herranz-Pérez Vicente (3), Brunella Franco (4), Laurence Jégo (1), Toshinobu Shida (5), Fan Ye (2), Laurent Pasquier (6), Philippe Loget (7), Nadège Gigot (8), Bernard Aral (8), Carla A.M. Lopes (9), Julien Thevenon (1), Frédéric Huet (1), Andrew M. Fry (10), Sophie Saunier (11), Jean-Baptiste Rivière (1), Tania Attié-Bitach (12), Jose Manuel Garcia-Verdugo (13), Laurence Faivre (1), André Mégarbané (14), Maxence V. Nachury (2)

- EA 4271 GAD, Université de Bourgogne, Dijon, France
- Department of Molecular and Cellular Physiology, Stanford University School of Medicine, Stanford, USA
- Laboratorio de Neurobiología Comparada, Instituto Cavanilles, Universitat de València, Valencia, Espagne
- Telethon Institute TIGEM and Medical Genetics services, Department of Pediatrics, Federico II University of Naples, Naples, Italie
- Laboratory for Protein Conformation Diseases, RIKEN Brain Science Institute, Wako, Saitama, Japon
- Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du Développement et Syndromes malformatifs » de l'Ouest, Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, CHU Rennes, Rennes, France
- Laboratoire d'Anatomie-Pathologie, CHU Rennes, Rennes, France
- EA 4271 GAD, Université de Bourgogne, Dijon, France
- Department of Biochemistry, UK, University of Leicester, Leicester, Royaume-Uni
- Department of Biochemistry, University of Leicester, Leicester, Royaume-Uni
- Plateforme de génomique, Fondation IMAGINE, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France
- Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
- Laboratorio de Neurobiología Comparada, Instituto Cavanilles, Universitat de València, València, Espagne
- Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Université Saint-Joseph, Beirut, Liban

**Auteur correspondant** : Thauvin-Robinet Christel (christelthauvin@gmail.com)

Les syndromes orofaciodigitaux (OFD) sont un groupe hétérogène de ciliopathies caractérisées par l'association de malformations de la face, de la cavité orale et des extrémités. Une classification clinique a déterminé 13 sous-types, basée à la fois sur le mode de transmission et les signes associés : polykystose rénale et agénésie du corps calleux (OFD I), hypoplasie vermiennienne avec signe de la dent molaire (OFD VI), agénésie tibiale (OFD IV), rétinopathie pigmentaire (OFD IX),... Seules les bases moléculaires de l'OFD I ont été complètement élucidées par l'identification du gène OFD1, qui réprime l'élongation des centrioles. Sa perte entraîne une élongation exagérée du centriole, ne permettant pas son amarrage à la membrane cellulaire et la formation secondaire

du cil. Des mutations des du gène DDX59 dans l'OFDII, des gènes TMEM216, OFD1 et C5orf42 ont été rapportées dans l'OFD VI et du gène TCNT3 dans l'OFD IV.

Grâce à une stratégie couplant cartographie par homozygotie et séquençage haut débit d'exome, nous avons identifié une mutation tronquante homozygote chez un enfant atteint d'une forme sévère d'OFD avec microcéphalie (<5DS) et retard mental sévère, issus de parents consanguins. L'IRM cérébrale montrait la présence d'une dent molaire, une hypoplasie du corps calleux, des kystes sous-arachnoïdiens et un défaut de myélinisation. Deux autres mutations ont été secondairement identifiées chez un fœtus présentant un phénotype semblable, associant microcéphalie sévère, polydactylie postaxiale des mains bilatérale et polydactylie préaxiale bilatérale des pieds, hypoplasie du corps calleux et hypoplasie vermiennienne. Le gène C2CD3 était connu pour coder une protéine très conservée qui assemble les centrioles et le cil ; le modèle murin KO léthal présentait entre autres une exencephalie et une polydactylie des quatre membres. Des études fonctionnelles in vitro ont été menées afin de comprendre le rôle exact de C2cd3. Nous avons montré que C2cd3 est une protéine d'interaction avec le BBSome, un complexe protéique qui se localise au niveau du cil et de granules cytoplasmiques appelés satellites centriolaires : C2cd3, comme Ofd1, se localise à l'extrémité distale des centrioles et des pro-centrioles. Cependant, contrairement à Ofd1, la perte de C2cd3 entraîne un raccourcissement des centrioles et la perte de toutes les structures distales incluant les appendices distaux et sous-distaux. Comme C2cd3 se lie à Ofd1 et induit en surexpression une hyperélongation centriolaire, nous proposons que C2cd3 favorise directement l'élongation centriolaire et qu'Ofd1 joue un rôle de régulateur négatif de C2cd3. Ces résultats identifient également la régulation de l'élongation des centrioles comme un mécanisme pathogénique émergent des ciliopathies.

**Mots-clefs** : syndrome oro-facio-digital, centriole, C2CD3

## CO11/#316

### La myopathie à agrégats tubulaires est causée par l'activation constitutive du senseur de calcium STIM1

Johann Bohm (1), Frédéric Chevessier (2), André Maues De Paula (3), Karima Ghorab (4), Catherine Koch (1), Nicolas Levy (3), Bruno Eymard (2), Marc Bartoli (3), Jocelyn Laporte (1)

- Département de Médecine Translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France
- Centre de Référence de Pathologie Neuromusculaire Paris-Est, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- UMR S910, Faculté de Médecine de Marseille, Marseille, France
- Centre National de Référence Neuropathies Périphériques Rares, CHU de Limoges, Limoges, France

**Auteur correspondant** : Bohm Johann (johann@igbmc.fr)

Le calcium (Ca<sup>2+</sup>) est un facteur physiologique essentiel et joue un rôle primordial dans une multitude de fonctions cellulaires. Dans le muscle squelettique, le calcium est principalement stocké dans le réticulum sarcoplasmique et relâché dans le cytoplasme après stimulation, où il déclenche la contraction musculaire et agit comme messager secondaire contrôlant croissance et différenciation.

STIM1 (Stromal Interaction Molecule 1) est le senseur principal de calcium dans le réticulum sarcoplasmique. Il contient un domaine intraluminal avec deux motifs EF et un motif SAM, un domaine transmembranaire et une partie cytosolique interagissant avec d'autres protéines. Les EF perçoivent et lient le calcium et lors de l'évacuation du calcium du réticulum, STIM1 se déplie, oligomérisé, et active les canaux calciques CRAC (Ca<sup>2+</sup>-release-activated Ca<sup>2+</sup>-channels). Ce mécanisme de régulation de l'homéostasie calcique cellulaire par STIM1 est appelé SOCE (store-operated calcium entry).

Par séquençage d'exome, nous avons identifié des mutations dans STIM1 comme cause génétique de la myopathie à agrégats

tubulaires (TAM). Cette maladie musculaire progressive affecte principalement les membres inférieurs et peut entraîner faiblesse musculaire, crampes et myalgies. Les biopsies des patients TAM montrent des agencements réguliers de tubules membranaires dans les fibres musculaires. Ces agrégats peuvent également apparaître en tant que trait secondaire dans diverses maladies musculaires héréditaires ou acquises et s'accumulent dans le muscle normal avec l'âge.

Les neuf mutations dans STIM1 que nous avons identifiées à ce jour (partiellement non publiées) se trouvent dans les motifs EF et touchent des acides aminés conservés. Pour évaluer leur impact, nous avons transfecté des myoblastes avec des constructions STIM1-YFP. La protéine sauvage présente une distribution régulière et oligomérisse après l'évacuation du calcium réticulaire induite par la thapsigargine. En revanche, les protéines mutantes oligomérisent indépendamment de la thapsigargine, indiquant que la perception du calcium dans le réticulum est altérée. Afin d'étudier le pathomécanisme de la maladie, nous avons analysé la réponse des myoblastes de patients TAM au SOCE. Contrairement aux myoblastes contrôles, les cellules des patients ont un niveau de calcium cytoplasmique fortement élevé. L'ajout de calcium dans le milieu induit un influx brusque et massif de calcium, suggérant une ouverture constitutive des canaux calciques, alors que nous avons mesuré une augmentation régulière et modérée chez les contrôles. Ces résultats montrent que les mutations de gain de fonction dans STIM1 encombrant la perception et la fixation de calcium dans le réticulum sarcoplasmique, ce qui induit une activation constitutive des canaux calciques et entraîne une perturbation de l'homéostasie calcique dans le muscle des patients. STIM1 est le premier gène associé aux myopathies à agrégats tubulaires.

**Mots-clefs :** Myopathie, STIM1, Calcium

## CO12/#140

### Identification d'un nouveau locus de susceptibilité pour l'hypertension artérielle pulmonaire

Mélanie Eyries (2,3,4), Marine Germain (1,2), David Montani (5,6), Odette Poirier (2,3), Barbara Girerd (5,6), Peter Dorfmueller (5,7), Florence Coulet (4), Sophie Nadaud (2,3), Svetlana Maugendre (2,3), Christophe Guignabert (5), Wassila Carpentier (8), Anton Vonk-Noordegraaf (9), Marilyn Levy (10), Ari Chauat (11), Salim Barkas (4), Jean-Charles Lambert (12), Marion Bertrand (13), Anne-Marie Dupuy (14), Luc Letenneur (15), Mark Lathrop (16), Philippe Amouyel (12), Thomy De Ravel (17), Marion Delcroix (18), Eric Austin (19), Ivan Robbins (20), Anna Hemmes (20), James Loyd (20), Erika Berman-Rosenzweig (21), Robyn Barst (21), Wendy Chung (21), Gerald Simonneau (5,6), David Trégoût (1,2), Marc Humbert (5,6), Florent Soubrier (2,3,4).

1. UMR\_S 937, INSERM et Université Pierre & Marie Curie, Paris, France
2. ICAN Institute for Cardiometabolism and Nutrition, Paris, France
3. UMR\_S956, INSERM et Université Pierre & Marie Curie, Paris, France
4. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
5. Faculté de Médecine, Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre, France
6. Centre de Référence de l'Hypertension Pulmonaire Sévère, DHU thorax Innovation, Service de Pneumologie, Hôpital de Bicêtre, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France
7. UMR\_S 999, LabEx LERMIT, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson, France
8. Plate-forme Post-génomique (P3S), Université Pierre & Marie Curie, Paris, France
9. Department of Pulmonary Diseases, VU University Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas
10. Service médico-chirurgical cardiaque, Hôpital Necker-enfants Malades, Paris, France
11. Service des maladies respiratoires, CHU Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
12. UMR\_S 744, INSERM et Institut Pasteur de Lille, Université de Lille Nord de France, Lille, France
13. UMR\_S 708, INSERM et Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
14. UMR\_S 888, INSERM et Université de Montpellier, Montpellier, France
15. U897, INSERM, et Université de Bordeaux, ISPED, Bordeaux, France
16. Institut de Génétique, Centre National de Génotypage, Commissariat à l'Energie Atomique, Evry, France

17. Centre for Human Genetics, University Hospitals of Leuven, Leuven, Belgique

18. Department of Pneumology, Catholic University of Leuven, Gasthuisberg University Hospital, Leuven, Belgique

19. Department of Pediatrics, Division of Pulmonary, Allergy, and Immunology Medicine, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, USA

20. Department of Medicine, Division of Allergy, Pulmonary, and Critical Care Medicine, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, USA

21. Department of Pediatrics, Columbia University, New York, USA

**Auteur correspondant :** EYRIES Mélanie (melanie.eyries@psl.aphp.fr)

L'Hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie rare et grave, définie par l'augmentation des résistances artérielles pulmonaires, résultant de l'oblitération progressive des artères pulmonaires de petit calibre par une prolifération des cellules vasculaires et évoluant vers l'insuffisance cardiaque droite. L'HTAP peut survenir de façon idiopathique sans étiologie reconnue, ou associée à une maladie systémique comme une collagénose ou une maladie infectieuse, ou encore sous une forme héritable. Le gène majeur responsable de cette forme héritable d'HTAP est BMPR2 qui est retrouvé muté dans ~80% des formes familiales (HTAPf) et 15% des formes sporadiques (HTAPi). Dans le but d'identifier de nouveaux facteurs génétiques associés à l'HTAP, nous avons réalisé la première étude d'association sur génome entier (GWA) pour cette pathologie avec réplification dans une cohorte indépendante, totalisant 625 patients HTAPi/HTAPf sans mutation BMPR2 connue et 1525 individus contrôles. Des associations significatives ont été observées avec des polymorphismes du locus 18q22.3. En particulier, l'allèle rare du marqueur rs2217560 était associé à un odds-ratio pour la maladie de 1.97 [1.59 - 2.45] ((P = 7.47 x 10<sup>-10</sup>). Ce polymorphisme est localisé dans la région 3'UTR du gène codant pour la cerebellin-2 (CBLN-2). La CBLN-2 est une glycoprotéine neuronale sécrétée, exprimée essentiellement dans le cerveau et décrite comme participant à la formation de la synapse. Nous avons montré que la CBLN-2 est exprimée dans le poumon humain essentiellement au niveau des cellules endothéliales et que son expression est augmentée chez les patients atteints d'HTAP à la fois dans le tissu pulmonaire total ainsi que dans les cellules endothéliales isolées à partir de poumons explantés. De plus, in vitro nous avons montré que la CBLN-2 induit une augmentation de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires pulmonaires. L'ensemble de ces résultats suggère que la CBLN-2 pourrait être un nouveau facteur génétique et physiopathologique important dans l'HTAP.

**Mots-clefs :** Etude d'association génome entier (GWA), Cerebellin-2, Hypertension artérielle pulmonaire

## Session Plénière 3

### CO13/#684

### Caractérisation clinique de 33 nouveaux patients porteurs d'une Microduplication 16p13.11 contenant les gènes NDE1 et MYH11 : Discussion du caractère pathogène ou non de ce CNV

Laila El Khattabi (1), Andrée Delahaye (2), Joris Andrieux (3), Martine Doco Fenzy (4), Patrick Callier (5), Sandra Chantot (6), Alexandra Afenjar (7), Odile Boute-Benejean (8), Marie Pierre Cordier (9), Laurence Faivre (5), Christine Francannet (10), Marion Gerard (11), Alice Goldenberg (12), Alice Masurel (13), Anne-Laure Mosca-Boiron (5), Nathalie Marle (5), Catherine Vincent-Delorme (14), Anne Moncla (15), Nicole Philip (15), Nathalie Le Meur (16), Michèle Mathieu-Dramard (17), Ghislaine Plessis (11), Gaetan Lesca (18), Massimiliano Rossi (9), Patrick Edery (18), Loïc De Pontual (19), Sandrine Marlin (20), Anne Claude Tabet (21), Sylvie Jaillard (22), Aziza Lebbar (23), Nathalie Le Du (23), Aurélie Coussement (23), Lesley Suïro (24), Christine loos (24), Chantal Missirian (15), Aline Receveur (25), Marianne Till (9),

Jacques Motte (26), Caroline François-Fiquet (27), Emilie Landais (4), Pascal Garnier (28), Catherine Yardin (29), Cécile Laroche (30), Géraldine Viot (31), Philippe Vago (32), Jean-Michel Dupont (1), Damien Sanlaville (18), Brigitte Benzacken (2), Eva Pipiras (2)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin-Maternité Port-Royal, AP-HP, Inserm, U1016, Institut Cochin, CNRS UMR8104, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Jean Verdier, AP-HP, Bondy, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, UFR SMBH, Bobigny, INSERM, U676, Paris, France
3. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
4. Service de Génétique, CHU Reims, UFR de Médecine IFR53, EA3801, Reims, France
5. Département de Génétique, CHU, Dijon, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
7. Service de Neuropédiatrie et CRMR anomalies du développement, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. CLAD Nord de France, Service de Génétique Clinique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, France
9. HCL, Service de Génétique, GHE, Lyon
10. Service de Génétique Médicale, Hôtel Dieu, Clermont-Ferrand, France
11. Service de Génétique, CHU Côte de Nacre, Caen, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU Ch. Nicolle, Rouen, France
13. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU, Dijon, France
14. CLAD Nord de France, Service de Génétique Clinique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, CH Arras, France
15. Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, AP-HM, Marseille, France
16. Laboratoire de Cytogénétique, EFS Normandie, Bois-Guillaume, France
17. Service de Génétique Clinique, CHU, Amiens, France
18. HCL, Service de Génétique, GHE, CRNL, CNRS UMR 5292, INSERM U1028, Université Claude Bernard Lyon I, Lyon, France
19. Service de Néonatalogie et Pédiatrie, Hôpital Jean-Verdier, Université Paris 13, Bondy, France
20. Centre de Référence des Surdités Génétiques, Service de Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
21. Département de Génétique, CHU Robert Debré, Paris, France
22. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, France
23. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin-Maternité Port-Royal, AP-HP, Paris, France
24. Pôle de Pédiatrie, Hôpital Raymond Poincaré, APHP, Garches, France
25. Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU, Amiens, France
26. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Américain, CHU Reims, France
27. Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Américain, CHU Reims, EA3801 SFR CAP Santé, Reims, France
28. Pédiatrie, CAMSP, Troyes, France
29. Laboratoire d'Histologie, Cytologie, Cytogénétique, Biologie Cellulaire et de la Reproduction, Hôpital Universitaire de Limoges, France
30. Département de Pédiatrie, Hôpital Universitaire de Limoges, France
31. Maternité Port-Royal, Hôpital Cochin, Paris, France
32. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Clermont-Ferrand, EA4677 ERTICA, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** El Khattabi Laïla (laila.el-khattabi@inserm.fr)

La généralisation de l'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) chez les patients atteints d'un retard de développement avec ou sans malformations associées a permis la mise en évidence de variations de nombre de copies (CNV) de petite taille. Néanmoins, certains de ces CNV posent aujourd'hui de réelles difficultés d'interprétation car souvent transmis d'un parent sain ou modérément atteint. Les CNVs de la région 16p13.11, sujette à des délétions/duplications récurrentes en raison de sa richesse en duplicons, posent ainsi des difficultés d'interprétation majeures. Si les délétions ont clairement été associées au retard de développement avec ou sans malformations associées, la pathogénicité des duplications réciproques reste controversée. Initialement considérées comme bénignes, les microduplications 16p13.11 sont aujourd'hui décrites comme un facteur de risque à un large panel de pathologies neuropsychiatriques allant de l'autisme à la déficience intellectuelle en passant par la schizophrénie. A ce jour, une cinquantaine de cas ont été décrits dans la littérature essentiellement dans des populations de patients présentant des troubles du comportement.

Nous rapportons ici les résultats d'une étude collaborative française ayant abouti à l'inclusion de 33 patients. Une première analyse des données révèle que 24 patients sur 32 présentent un retard du langage avec un vocabulaire pauvre voire une absence totale de

langage et 16/29 ont des troubles envahissants du développement notamment une hétéroagressivité et des stéréotypies. Par ailleurs, la dysmorphie faciale est inconstante, discrète et non caractéristique (15/30). Enfin, des malformations de sévérité variable ont été observées chez 10 patients sur 30. Sur le plan cytogénétique, toutes les duplications ont été diagnostiquées par ACPA et vérifiées par FISH ou PCRq. Sur les 20 cas pour lesquels l'étude parentale a pu être réalisée, seule une microduplication est survenue de novo. Les autres sont héritées d'un parent apparemment sain (9/11) ou présentant une déficience intellectuelle modérée (2/11).

Cette première série française de microduplications 16p13.11 apporte des arguments supplémentaires en faveur de la pathogénicité de ce CNV, bien qu'il existe une extrême variabilité phénotypique chez les patients et les parents porteurs. Les résultats de la caractérisation clinique des patients seront confrontés à ceux de la littérature et nous discuterons les éléments pouvant expliquer la variabilité phénotypique.

**Mots-cléfs :** CNV, Microduplication 16p13.11, NDE1

## CO14/#185

### Thérapie par saut d'exon des maladies rétinienne : injection intravitréenne d'AON, une approche prometteuse.

Xavier GERARD, Isabelle PERRAULT, Arnold MUNNICH, Josseline KAPLAN, Jean-Michel ROZET  
Inserm U781, Hôpital Necker, PARIS, France

**Auteur correspondant :** ROZET Jean-Michel (jean-michel.rozet@inserm.fr)

Introduction : L'amaurose congénitale de Leber (ACL) est la première cause de cécité incurable de l'enfant. Elle est caractérisée par une hétérogénéité clinique, génétique, moléculaire et physiopathologique, faisant de l'identification des gènes responsables, du diagnostic moléculaire et du développement de thérapies de véritables défis. Les mutations de CEP290 sont la principale cause de la maladie. Ce gène code une protéine ciliaire impliquée dans l'assemblage et/ou la fonction du cil connecteur des photorécepteurs. La substitution intronique c.2991+1655A>G est la mutation la plus fréquemment impliquée dans l'ACL (10% des cas) et représente donc une cible thérapeutique importante. Cette altération introduit dans l'ARNm un exon cryptique codant un codon stop prématuré. Récemment, nous avons fait la preuve de principe de l'utilisation d'oligonucléotides antisens (AON) pour sauter cet exon et corriger l'épissage dans des fibroblastes de patients (Gerard et al., 2012). Ici, nous apportons les preuves de principe d'un saut d'exon in vivo par injection intravitréenne d'AONs.

Méthodes : Les séquences AON ont été dessinées pour sauter l'exon 36 de l'ARNm CEP290 murin (préservation du cadre de lecture). Des concentrations variables (1-10 nmoles) d'AONs 2'-OMePS fluorescents, ayant préalablement démontré leur efficacité in vitro dans des cellules NIH-3T3, ont été injectés dans le vitré de souris sauvages C57BL/6J. Des yeux injectés avec un oligonucléotide contrôle et des yeux non-injectés ont été utilisés comme témoin. Des coupes rétinienne et l'ARNm ont été préparés à 2, 4, 8, 12, 18 et 30 jours post-injection (jpi) pour suivre i) la distribution des oligonucléotides à travers les couches cellulaires et ii) l'efficacité du saut d'exon.

Résultats : Un AON efficace in vitro et un oligonucléotide contrôle ont été injectés dans le vitré des animaux. Une excellente corrélation entre l'efficacité du saut d'exon et la dose d'AON injectée a été mise en évidence. Les analyses histologiques ont montré une large distribution de l'AON (10 nmoles) dans toutes les couches cellulaires de la rétine, dès 2 jours et se maintenant au moins jusqu'à 30 jpi. Un saut d'exon efficace a été noté dès 2 jpi. Une décroissance linéaire de la quantité d'ARNm délété de l'exon 36 a été mesurée, avec un ARNm modifié détectable à 30 jpi.



Conclusion : Nous rapportons ici qu'une injection intravitréenne unique d'AON permet un saut d'exon efficace et persistant dans les cellules rétinienne. Par conséquent, cette stratégie peut être considérée comme une alternative intéressante à la thérapie de remplacement de gènes pour 10% des patients atteints d'ACL.

**Mots-clefs :** Rétine, Saut d'exon, Thérapie

**CO15/#227**

## Les mutations du gène ALDH1A3 sont responsables de microphthalmie et d'anophtalmie récessives autosomiques

Lucas Fares-Taie (1), Sylvie Gerber (1), Nicolas Chassaing (2), Gill Clayton-Smith (3), Sylvain Hanein(1), Eduardo Silva (4), Margaux Serey (1), Valérie Serre (1), Xavier Gérard (1), Clarisse Baumann (5), Ghislaine Plessis (6), Bénédicte Demeer (7), Lionel Brétilion (8), Christine Bole (9), Patrick Nitschke (10), Arnold Munnich (1), Stanislas Lyonnet (1), Patrick Calvas (2), Josseline Kaplan (1), Nicola Ragge (11), Jean-Michel Rozet (1).

1. INSERM U781 et Département de Génétique, hôpital Necker, Paris, France
2. CHU Toulouse, Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
3. Genetic Medicine, Manchester Academic Health Sciences Centre, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume-Uni
4. Department of Ophthalmology, Coimbra University Hospital, Coimbra, Portugal
5. Département de Génétique, CHU Robert Debré, Paris, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Côte de Nacre, Caen, France
7. Département de Pédiatrie, Hôpital Nord, Amiens, France
8. UMR1324 CSGA, Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, Dijon, France
9. Plateforme Génomique, Fondation IMAGINE, Paris, France
10. Plateforme Bioinformatique, Université Paris Descartes, Paris, France
11. Wessex Clinical Genetics Service, University Hospital Southampton, Southampton, Royaume-Uni

**Auteur correspondant :** Rozet Jean-Michel (jean-michel.rozet@inserm.fr)

Introduction : Les anophtalmies et microphthalmies (A/M) sont des anomalies embryonnaires du développement du globe oculaire. Elles peuvent être isolées ou associées à de multiples malformations définissant de nombreux syndromes. Les A/M sont hétérogènes sur le plan clinique, génétique et physiopathologique. L'objectif de cette étude était d'identifier le gène responsable de M/A

récessive autosomique dans une grande famille consanguine originaire du Pakistan rassemblant trois individus atteints.

Méthodes : Nous avons réalisé une étude combinant cartographie génétique, séquençage de l'exome et séquençage par Sanger pour identifier le gène responsable de la maladie, ALDH1A3. Dans un deuxième temps, ce gène a été criblé à la recherche de mutations dans une cohorte de 28 familles d'A/M indépendantes, toutes consanguines. Un travail de validation fonctionnelle des mutations faux-sens identifiées a été réalisé par analyse des ARNm et des protéines mutantes (RTqPCR et Western Blot) exprimées dans des cellules HEK293 transfectées transitoirement par des constructions codent les ADNc mutants.

Résultats : Nous avons identifié une mutation homozygote faux-sens dans le gène ALDH1A3 codant le membre A3 des aldhydes déhydrogénases 1 ségrégeant avec le phénotype A/M dans la famille princeps pakistanaise. La recherche de mutations dans une cohorte de 28 familles a permis l'identification de deux autres mutations homozygotes, une mutation faux-sens et une mutation touchant un site consensus d'épissage, dans deux familles simplex. L'expression transitoire des constructions mutantes de l'ALDH1A3 a révélé que si les transcrits mutants s'expriment à des taux équivalents par rapport au transcrit sauvage dans les cellules HEK293, l'abondance des monomères portant les mutations faux-sens est très réduite par rapport au monomère sauvage, suggérant une altération de la synthèse d'acide rétinioïque. Sur le plan

clinique, les cinq patients des trois familles étaient atteints d'A/M très sévères. Un kyste oculaire a été relevé dans deux cas, suggérant l'induction de la cupule optique. Des anomalies pulmonaires, cardiaques et neurologiques ont été relevées de façon inconstantes.

Discussion-Conclusion: Le rôle de l'acide rétinioïque dans le développement de l'oeil est établi de longue date. ALDH1A3 est une enzyme clé dans la formation d'un gradient d'acide rétinioïque (AR) le long de l'axe dorso-ventral au cours du développement précoce de l'oeil. L'identification des mutations de cette enzyme à l'origine d'A/M sévère fournissent la première preuve d'un lien direct entre synthèse de l'AR et anomalies oculaires héréditaires chez l'homme

**Mots-clefs :** Anophtalmie/Microphthalmie, ALDH1A3, Acide rétinioïque

**CO16/#785**

## Pénétrance incomplète du syndrome néphrotique cortico-résistant: quand l'interaction des mutations intervient !

Kálmán Tory (1), Dora K Menyhard (2), Stéphanie Woerner (1), Fabien Nevo (1), Olivier Gribouval (1), Andrea Kerti (3), Pál Straner (2), Christelle Arrondel (1), Evelyne Huynh Cong (1), Tivadar Tulassay (3), Géraldine Mollet (1), Andras Perczel (2), Corinne Antignac (1)

1. INSERM U983, Hôpital Necker, Paris, France
2. MTA-ELTE Protein Modeling Research Group, Eötvös Loránd University, Budapest, Hongrie
3. Ist Department of Pediatrics, Semmelweis University, Budapest, Hongrie

**Auteur correspondant :** Tory Kalman (torykalman@hotmail.com)

Le gène NPHS2, codant la podocine, protéine ancrée à la membrane, est le gène le plus fréquemment muté dans le syndrome néphrotique cortico-résistant (SNCR). Ses mutations sont transmises selon un mode autosomique récessif. Alors que des mutations sur les deux allèles ([mut];[mut]) conduisent à un SNCR précoce, la trans-association du polymorphisme c.686G>A (p.Arg229Gln, rs61747728, MAF chez les Européens: 3-4%) et d'une mutation cause un SNCR tardif. A l'état homozygote, le polymorphisme p.Arg229Gln n'entraîne pas de SNCR.

Du fait d'une différence importante entre la prévalence observée et la prévalence attendue du SNCR lié à [p.Arg229Gln];[mut], nous avons émis l'hypothèse d'une pénétrance incomplète du SNCR chez les individus avec [p.Arg229Gln];[mut], ce que nous avons confirmé par l'identification de l'association [p.Arg229Gln];[mut] chez 6/129 parents, non-atteints, dont les enfants portent des mutations dans les exons 1-6. De façon intéressante, nous avons mis en évidence que la majorité des mutations associées à la p.Arg229Gln chez les patients atteints ('mutations associées') sont des mutations faux-sens localisées dans les exons 7-8 (56/71 allèles, 79%), alors que ces mutations sont rarement retrouvées chez les patients avec [mut];[mut] (34/498 allèles, 7%, p=1.4x10<sup>-39</sup>), ce qui prouve le rôle crucial des 'mutations associées' dans la pathogénicité du variant p.Arg229Gln. Nous avons étudié la localisation subcellulaire de la podocineArg229Gln dans des lignées podocytaires humaines co-exprimant les différents mutants de la podocine. La podocineArg229Gln est délocalisée uniquement lorsqu'elle est co-exprimée avec des protéines mutantes portant les 'mutations associées', indiquant un effet dominant-négatif de celles-ci sur la podocineArg229Gln. Nous avons confirmé cette délocalisation de la podocineArg229Gln ex vivo, dans des podocytes isolés à partir de l'urine d'un patient hétérozygote composite pour p.Arg229Gln et une 'mutation associée'. Par modélisation structurale nous avons montré que les 'mutations associées' sont localisées dans la région hélicale de la partie C-terminale de la podocine, région impliquée dans la dimérisation, et que leur association avec un monomère podocineArg229Gln altère la structure des dimères.

En conclusion, le variant p.Arg229Gln est uniquement pathogène lorsqu'il est associé à des mutations particulières. Ainsi, ces résultats décrivent pour la première fois une maladie autosomique récessive dans laquelle la pathogénicité d'un allèle dépend de l'autre. Ces résultats ont un impact direct sur la prise en charge des patients, aussi bien au niveau clinique que pour le conseil génétique, et ouvre des nouvelles perspectives pour l'évaluation de la pathogénicité des mutations dans les maladies de transmission autosomique récessive.

**Mots-clefs :** syndrome néphrotique, podocine, transmission non-mendélienne

## CO17/#275

### Les voies GABAergique et glutamatergique sont affectées au niveau spatial et temporel dans le cerveau des souris *Mecp2*-déficientes.

Rita El Khoury, Nicolas Panayotis, Valerie Matagne, Adeline Ghata, Gisèle Alacaraz, Laurent Villard, Jean-Christophe Roux  
Aix Marseille Université - INSERM, U910., Faculté de Médecine de La Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Roux Jean-Christophe (jean-christophe.roux@univ-amu.fr)

MeCP2 (Methyl CpG binding Protein 2), protéine dont le gène est situé sur le chromosome X est impliquée dans la modulation de la transcription de nombreux gènes cible. Son expression, élevée dans les neurones postmitotiques est fondamentale au développement cérébral. Ainsi, des mutations dans le gène *Mecp2* conduisent à un vaste panel de troubles neurologiques dont le principal est le syndrome de Rett (RTT). Cette pathologie dominante liée à l'X affecte principalement les jeunes filles avec une incidence de 1/10000 à 1/15000 naissances. Même si les causes précises du phénotype "Rett" demeurent spéculatives, le pattern d'expression spatial et temporel de MeCP2 est en lien avec la maturation neuronale. D'un point de vue clinique, la littérature rapporte de nombreux troubles des fonctions cognitives, motrices, et autonomes. Des études faites sur des modèles souris *Mecp2* ont révélé des dérégulations importantes de la neurotransmission. En particulier, les déficits bioaminergiques ont été largement étudiés chez les souris *Mecp2*-déficientes. Le dysfonctionnement des systèmes GABAergiques et glutamatergiques a plus récemment été proposé afin d'expliquer les déséquilibres observés entre excitation et inhibition dans le cerveau des souris *Mecp2*-déficientes. Cependant, les résultats obtenus pas les différents groupes divergents en raison de différences d'âge et de tissus étudiés. Dans la présente étude, nous avons utilisé la PCR en temps réel, le western blot et HPLC pour comparer le métabolisme du GABA et glutamate à deux stades du développement (pré-symptomatique et symptomatique) et dans 8 structures clés du cerveau de la souris-*Mecp2* déficiente. Nous avons par ailleurs étudié des enzymes clés (KCC2, NKCC1, VGLUT1 / 2, GAD1 / 2) au niveau ARNm et protéique. En conclusion, nos résultats ont révélé une dérégulation spatiale et temporelle des systèmes glutamatergiques et GABAergiques, à tous les niveaux de régulation étudiés. Par ailleurs, nous avons constaté que la stimulation pharmacologique du système GABAergique est efficace pour améliorer la durée de vie des souris déficientes *Mecp2*, ce qui ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques dans le RTT.

**Mots-clefs :** Syndrome de Rett, *Mecp2*, Epigenétique

## CO18/#263

### Bilan de 20 ans de diagnostic du syndrome de Li-Fraumeni en France

Gaëlle BOUGEARD (1), Stéphanie BAERT-DESURMONT (1), Laurence BRUGIERES (2), Richard SESBOUE (1), Mariette RENAUX-PETEL (1), Valérie BONADONA (3), Catherine BONAITI-PELLIE (4), Thierry FREBOURG (1), - The French LFS working group (5)

1. Département de Génétique CHU de Rouen et Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale, Université de Rouen, -, ROUEN, France
2. Département d'Oncologie Pédiatrique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
3. UMRUCBL/CNRS 5558, Centre Léon Bérard, LYON, France
4. Inserm et Hôpital Paul Brousse, -, VILLEJUIF, France
5. -, -, -, France

**Auteur correspondant :** BOUGEARD Gaëlle (gaelle.bougeard-denoyelle@univ-rouen.fr)

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS), dû aux mutations de TP53, représente une prédisposition génétique au cancer remarquable par l'étendue de son spectre tumoral incluant sarcomes, cancers du sein pré-ménopausiques, tumeurs cérébrales et corticosurrénales et par la précocité des tumeurs. Depuis vingt ans, l'analyse de TP53 dans plus de 1700 familles a permis d'identifier 214 familles françaises présentant une altération de TP53, grâce aux critères nosologiques de Chompret progressivement élaborés par le groupe français sur le LFS. La mise à jour des données de 322 patients porteurs d'une mutation, ayant développé un total de 552 tumeurs, a révélé (i) que l'âge médian de développement de la première tumeur est de 27 ans, (ii) qu'au moins 43 % des patients développent des tumeurs primitives multiples et (iii) qu'au moins 21 tumeurs secondaires se sont développées dans le champ d'irradiation d'une première tumeur. Les tumeurs les plus fréquemment observées sont les cancers du sein (167), les sarcomes des tissus mous (103), les ostéo- et chondro-sarcomes (58), les tumeurs cérébrales (43) et les corticosurrénales (42). L'analyse de 106 patients avec corticosurrénales a permis de mettre en évidence une mutation de TP53 chez 50 % des enfants et chez 21 % des adultes. De même, une mutation de TP53 a été identifiée chez 50 % des enfants présentant un carcinome des plexus choroïdes. Les altérations constitutionnelles de TP53 sont majoritairement (64 %) des mutations de type faux-sens, principalement localisées dans le domaine de liaison à l'ADN et 4 % correspondent à des réarrangements génomiques complexes. Les patients porteurs d'une mutation de TP53 et de l'haplotype 285-309 G-G de MDM2, codant le principal régulateur négatif de p53, développent des tumeurs 5 ans avant les patients porteurs d'autres haplotypes (p=0.043), indiquant que MDM2 285-309 G-G est un haplotype à plus haut risque chez les patients LFS. L'observation la plus marquante est que les patients porteurs d'une mutation faux-sens avec effet dominant-négatif développent leur première tumeur plus précocement que les patients porteurs d'une altération à effet perte de fonction exclusive (âge médian 22 ans versus 42 ans). Vingt-ans après l'identification des bases moléculaires du LFS, ce bilan révèle qu'il existe probablement deux formes de LFS : (i) une forme classique agressive, due à des mutations faux sens avec effet trans-dominant négatif et caractérisée par une forte pénétrance des mutations et des tumeurs de révélation précoce et (ii) une forme modérée due aux autres types de mutations caractérisée par des âges plus tardifs et une pénétrance plus faible. D'autre part, l'incidence exceptionnellement élevée des tumeurs primitives multiples dans le LFS suggère que les tumeurs secondaires résultent, au moins en partie, de l'effet génotoxique chez ces patients de la chimio et radio-thérapie, ce qui est corroboré par le nouvel essai fonctionnel de la voie p53 développé par notre équipe.

**Mots-clefs :** syndrome de Li-Fraumeni, p53, tumeurs primitives multiples



# Communications Orales en Sessions Simultanées

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

CS01/#71

### Des mutations du gène BCAP31 provoquent un nouveau syndrome lié au chromosome X avec déficience intellectuelle, surdité, dystonie, hypomyélinisation centrale et désorganisation de l'appareil de Golgi.

Pierre CACCIAGLI (1), Julie SUTERA-SARDO (1), Ana BORGES-CORREIA (1), Jean-Christophe ROUX (1), Imen DORBOZ (2), Jean-Pierre DESVIGNES (1), Catherine BADENS (1), Marc DELEPINE (3), Mark LATHROP (4), Pierre CAU (1), Nicolas LEVY (1), Nadine GIRARD (5), Pierre SARDA (6), Odile BOESPFLUG-TANGUY (2), Laurent VILLARD (1)

1. Inserm UMR\_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Inserm U676, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. CEA Institut Génomique, Centre National de Génotypage, Evry, France
4. Fondation Jean Dausset, CEPH, Paris, France
5. Service de Neuroradiologie, Hôpital d'Enfants de La Timone, Marseille, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** VILLARD Laurent (laurent.villard@univ-amu.fr)

BAP31 est l'une des protéines membranaires les plus abondantes du réticulum endoplasmique (RE). C'est une protéine chaperone impliquée dans plusieurs voies, dont la dégradation liée au RE, l'exportation des protéines du RE vers l'appareil de Golgi, et la mort cellulaire programmée. BAP31 est codée par le gène BCAP31, localisé en Xq28 chez l'Homme et cette protéine est fortement exprimée dans les neurones. Nous avons identifié des mutations perte-de-fonction dans le gène BCAP31 chez sept patients dans trois familles indépendantes. Les patients souffrent d'une encéphalopathie sévère caractérisée par une dystonie, une microcephalie inconstante, un aspect hypomyélinisé de la substance blanche et associée à une surdité sensorielle profonde, l'ensemble constituant un nouveau syndrome lié au chromosome X. Dans les fibroblastes primaires des personnes atteintes, nous avons montré que l'anomalie de BCAP31 modifie la morphologie du RE et provoque une désorganisation de l'appareil de Golgi dans une proportion significative de cellules. Contrairement à ce qui a été montré lors d'expériences de transfection transitoire avec des ARN interférents, nous démontrons que l'inactivation constitutive de BCAP31 n'active pas la réponse cellulaire aux protéines mal repliées ni les effecteurs de mort cellulaire. Nos données démontrent plutôt que la perte de BAP31 perturbe le métabolisme du RE et impacte la structure de l'appareil de Golgi, soulignant un rôle important pour BAP31 dans les échanges RE-Golgi. Ces découvertes documentent les bases moléculaires d'un nouveau syndrome Mendélien et relient le trafic intracellulaire des protéines avec une anomalie congénitale sévère du cerveau et une surdité.

**Mots-clefs :** Déficience intellectuelle, Chromosome X, Identification de gène

CS02/#378

### Des mutations faux-sens du domaine acide de WNK1 sont responsables de cas d'acidose hyperkaliémique familiale

Hélène Louis-dit-Picard (1), Maria Chavez-Canales (2), Nirubiah Thurairajasingam (3), Claire Chevalier (1), Sabrina Latrèche (1), Stéphane Decramer (4), Béatrice Fiquet (5), Xavier Girerd (6), Mark Glover (7), Paolo Mulatero (8), Gwenaëlle Roussey (9), Ivan Tack (10), Robert Unwin (11), Eric Clauser (1), Rosa Vargas-Poussou (12), Gerardo Gamba (13), Xavier Jeunemaitre (14)

1. INSERM U970, Centre de Recherche Cardiovasculaire - PARCC, PARIS, France
2. Unidad de Fisiología Molecular, Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán e Instituto de Investigaciones Biomédicas, MEXICO, Mexico
3. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou - AP-HP, PARIS, France
4. Service de Néphrologie - Hypertension Pédiatrique, Hôpital des Enfants Toulouse, TOULOUSE, France
5. Service d'hypertension et médecine vasculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou - AP-HP, PARIS, France
6. Pôle Coeur Métabolisme - Unité de Prévention Cardio Vasculaire, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
7. Division of Therapeutics and Molecular Medicine, University of Nottingham, NOTTINGHAM, Royaume-Uni
8. Dept of Medical Sciences, University of Torino, TURIN, Italie
9. Néphrologie Pédiatrique - Clinique Médicale Pédiatrique, Hôpital Mère Enfant - CHU de Nantes, NANTES, France
10. Service des Explorations Fonctionnelles Physiologiques, Hôpital de Rangueil, TOULOUSE, France
11. Centre for Nephrology, University College London - Medical School, Royal Free Campus and Hospital, LONDRES, France
12. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
13. Unidad de Fisiología Molecular, Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán e Instituto de Investigaciones Biomédicas, MEXICO, Mexico
14. INSERM U970, Centre de Recherche Cardiovasculaire – PARCC, PARIS, France

**Auteur correspondant :** LOUIS dit PICARD Hélène (helene.louis-dit-picard@inserm.fr)

L'hypertension hyperkaliémique familiale (HHF) est une forme rare d'hypertension artérielle avec à ce jour, des mutations identifiées dans 4 gènes : des mutations « gain de fonction » sur les gènes WNK1 et WNK4 et des mutations « perte de fonction » sur les gènes KLHL3 et CUL3, codant pour des protéines faisant partie d'un complexe E3 ubiquitine-ligase régulant la dégradation des WNKs par le protéasome. Cependant, environ 25% des cas d'HHF restaient inexpliqués.

Notre objectif était d'identifier un nouveau gène ou type de mutations responsable(s) de cette pathologie. Nous avons combiné des analyses d'exome entier et de liaison génétique sur une famille atteinte d'HHF puis étudié 25 cas considérés négatifs pour les 4 gènes connus.

Une mutation faux-sens hétérozygote située sur l'exon 7 du gène WNK1 coségrégait avec la pathologie chez la famille initiale, sur ses quatre générations. Contrairement aux délétions introniques connues sur WNK1, ce nouveau variant était localisé dans un court domaine acide très conservé (positions 628-638), préalablement démontré comme interagissant avec KLHL3. L'analyse des 25 autres cas a permis d'identifier six autres mutations faux-sens dans ce même motif chez neuf cas indépendants au total. De façon surprenante, tous les membres atteints de la famille initiale possédaient les caractéristiques biologiques typiques de la HHF ( $K^+ = 5,7 \pm 0,3$  mmol/L ;  $Cl^- = 111 \pm 1$  mmol/L ;  $CO_2t = 17,6 \pm 1,1$  mmol/L) mais une pression artérielle basse ( $PAS = 98 \pm 8$  ;  $PAD = 64 \pm 12$  mmHg). Les 25 autres cas (âge  $26 \pm 14$  ans) avaient aussi un phénotype biologique typique ( $K^+ = 5,6 \pm 0,5$  mmol/L ;  $Cl^- = 108 \pm 3$  mmol/L ;  $CO_2t = 19,8 \pm 1,9$  mmol/L) et une pression artérielle normale. Ils présentent également des valeurs normales de pression artérielle ( $PAS = 124 \pm 18$  ;  $PAD = 81 \pm 20$  mmHg).

Nous avons confirmé l'interaction entre WNK1 et KLHL3 par co-immunoprécipitation et l'effet des mutations est en cours d'étude. Leur effet sur le transport Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> ont été testés par transfections d'ARNc dans des œufs de Xénopes. La cotransfection de WNK1 surajoutée à NCC et CUL3 entraîne une activation de 250% de NCC qui est réduite par l'ajout de KLHL3, adaptateur du substrat WNK1 qui sera dégradé par le protéasome. La cotransfection avec WNK1 muté abolit cette régulation négative conduisant à une absence de dégradation de WNK1 par le complexe CUL3-KLHL3 et entraînant une augmentation relative de l'activité de NCC. Des analyses sont en cours pour tester l'impact de ces mutations sur l'activité d'autres transporteurs ioniques (ENaC, ROMK1).

Nous avons identifié une nouvelle forme d'acidose tubulaire hyperkaliémique sans hypertension, autosomique dominante, causée par des mutations faux-sens spécifiques de WNK1. Ces mutations sont concentrées dans un motif acide unique, essentiel pour son interaction avec KLHL3 et le complexe ubiquitine-ligase dépendant de la Culline 3.

**Mots-clefs :** Maladie rare, Hypertension, Etudes fonctionnelles

### CS03/#461

## Une diminution de l'expression de la rabconnectin-3alpha cause un nouveau syndrome associant une polyneuropathie démyelinisante, un retard mental, une anomalie de l'homéostasie du glucose et des déficits hypothalamiques multiples.

Brooke Tata (1), Lukas Huijbregts (1), Sandrine Jacquier (1), Emmanuelle Genin (2), Vincent Meyer (3), Leka Sofia (1), Perrine Charles (4), Didier Chevenne (5), Jean-Claude Carel (6), Juliane Leger (6), Nicolas de Roux (1)  
1. Inserm U1141, Université Paris Diderot. Hôpital Robert Debré, Paris, France  
2. Inserm U1078, Université de Brest, Brest, France  
3. IG-DSV-CEA, CEA, Evry, France  
4. US975, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France  
5. Biochimie Hormonologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France  
6. Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France

**Auteur correspondant :** de Roux Nicolas (nicolas.deroux@inserm.fr)

Dans ce travail, nous avons étudié le mécanisme moléculaire d'un nouveau syndrome observé chez 3 enfants nés de parents consanguins d'origine sénégalaise. Le phénotype associait un retard de croissance intra-utérin et post-natal, des épisodes d'hypoglycémie dans l'enfance qui ont évolué en un diabète insulino-dépendant pendant l'adolescence, une ataxie proprioceptive due à une neuropathie périphérique démyelinisante, un retard mental modéré, et un déficit gonadotrope associé à une hypothyroïdie centrale. Le séquençage de 2 régions candidates sur les chromosomes 13 et 15 définies par liaison génétique, a permis de caractériser une délétion homozygote de 15 nucléotides (c.5827\_5841del) dans l'exon 24 de DMXL2. Cette délétion est responsable d'une délétion de 5 acides aminés (p.1942\_1946del) dans la protéine rabconnectin-3alpha dont la fonction serait de participer à la régulation de l'activation de la voie RAB3 par les protéines RAB3GEP et RAB3GAP. Le phénotype de ces 3 frères est similaire mais pas identique au microSyndrome de Warburg du à des mutations de la protéine RAB3GAP1. Aucune mutation de DMXL2 n'a été trouvée chez des patients ayant un phénotype similaire mais pas identique. Afin de confirmer le lien entre la délétion c.5827\_5841del de DMXL2 et le phénotype, nous avons étudié l'expression de DMXL2, analysé le phénotype d'une souris invalidée pour Dmxi2 et caractérisé la fonction biochimique de la rabconnectin-3alpha. Nos résultats montrent que le niveau de l'ARNm de DMXL2 était significativement diminué dans les lymphocytes circulants des enfants malades par rapport aux parents et soeurs hétérozygotes. La rabconnectin-3alpha est

fortement exprimée dans l'hippocampe, dans l'hypothalamus, certains organes circumventriculaires dont l'organe subfornical et l'organe vasculaire de la lame terminale, le cervelet et dans le cortex piriforme ainsi que dans les cellules beta du pancréas. Dans l'hypothalamus, la rabconnectin-3alpha est notamment exprimée dans les neurones GnRH et dans les tanocytes au niveau de l'éminence médiane. L'analyse phénotypique des souris hétérozygotes Dmxi2-/+ montre un déficit gonadotrope entraînant une infertilité complète. Aucune naissance de souris homozygotes Dmxi2-/- n'a été observée, ce qui suggère que la rabconnectin-3a est indispensable au développement. Finalement, nos résultats montrent que la baisse de l'expression de Dmxi2 par siRNA dans les cellules INS-1E perturbe la régulation de la sécrétion d'insuline dépendante du glucose.

Ce travail décrit un nouveau phénotype. Il indique que le mécanisme physiopathologique de ce nouveau syndrome est une anomalie de la neurosécrétion mais également du dialogue entre la périphérie et le système nerveux central. Il apporte des informations nouvelles sur les mécanismes de la sécrétion synaptique ou hormonale qui participent à la reproduction, à l'homéostasie du glucose et à certaines fonctions cognitives.

**Mots-clefs :** Hypothalamus, Diabète, Ataxie

### CS04/#198

## La protéine mitochondriale MAGMAS est impliquée dans une dysplasie squelettique sévère

Cybel Mehawej (1,2), Agnès Delahodde (3), Laurence Legeai-Mallet (2), Valérie Delague (4), Nabil Kaci (2), Jean-Pierre Desvignes (4), Zoha Kibar (5), José-Mario Capo-Chichi (5), Eliane Chouery (1), Arnold Munnich (2), Valérie Cormier-Daire (2), André Mégarbané (1)  
1. Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban  
2. Inserm U781, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Fondation Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France  
3. Institut de Génétique et de Microbiologie, UMR8621, Université Paris-Sud, Orsay, France  
4. Inserm, UMR\_S 910, Aix Marseille Université, GMGF, Marseille, France  
5. Center of Excellence in Neuroscience of Université de Montréal et Department of Obstetrics and Gynecology, Centre de Recherche du CHU Sainte-Justine et Université de Montréal, Montréal, Canada

**Auteur correspondant :** Mégarbané André (megarbane@usj.edu.lb)

Les dysplasies spondylodysplastiques sont caractérisées par une platyspondylie majeure avec dysplasie épiphysio-métaphysaire responsable d'un retard de croissance sévère dès la période anténatale. Récemment, une nouvelle forme de dysplasies spondylodysplastiques a été décrite par Mégarbané et al. dans deux familles libanaises consanguines et non apparentées présentant un retard de croissance pré- et post-natal, une hypotonie axiale, un abdomen proéminent, des côtes courtes, des membres courts, une dysmorphie faciale et une platyspondylie sévère qui s'améliore avec le temps. Afin d'identifier le gène responsable de cette affection, nous avons utilisé une stratégie de type exome et identifié une mutation homozygote du gène MAGMAS (mitochondria-associated granulocyte macrophage colony stimulating factor-signaling gene) (NM\_016069, p.Asn76Asp) dans les deux familles. MAGMAS connue également sous le nom de PAM16 (presequence translocase-associated motor 16) est une protéine essentielle du complexe mitochondrial PAM impliqué dans la régulation de l'import actif des pré-protéines vers la matrice mitochondriale. Par immunohistochimie, nous avons montré que MAGMAS est spécifiquement exprimée au niveau de l'os et de la zone hypertrophique du cartilage. MAGMAS a une fonction cruciale pour la survie et est très conservé entre les espèces. Après avoir généré des souches de levures exprimant une copie normale ou mutée du gène humain MAGMAS, nous avons validé l'effet délétère de la mutation p.Asn76Asp, i) sur la

croissance des levures, en montrant que les souches portant le gène humain muté présentent un caractère thermosensible, ii) sur la fonction d'import des protéines vers la matrice mitochondriale, qui est altérée dans les souches mutées et iii) sur la stabilité de la protéine. Nous avons également observé un effet de la mutation sur la morphologie des mitochondries et des peroxyosomes des cellules de levures, suggérant une induction de l'autophagie dans les souches de levures portant la mutation p.Asn76Asp. Considérant le rôle de l'autophagie dans le contrôle de la maturation et de la différenciation des chondrocytes de la plaque de croissance, ces résultats suggèrent que l'induction par MAGMAS de l'autophagie précoce des chondrocytes, pourrait être responsable de la dérégulation du mécanisme d'ossification endochondrale. Le lien établi entre MAGMAS et cette nouvelle forme de dysplasie spondylodysplastique supporte un rôle clé de cette protéine mitochondriale dans le processus d'ossification endochondrale.

**Mots-clefs :** Dysplasie spondylodysplastique, Mutation, MAGMAS

## CS05/#420

### Corrélations phénotype-génotype à partir de 20 patients avec syndrome de Rubinstein-Taybi et mutation dans le gène EP300

Julien Van-Gils (1), Julie Desforges (1), Aurélien Trimouille (2), Caroline Rooryck-Thambo (1), Alexandra Afenjar (3), Oliver Bartsch (4), Lydie Burglen (3), Nathalie Dorison (5), Christine Francannet (6), David Genevieve (7), Alice Goldenberg (8), Stanislas Lyonnet (9), B Maranda (10), Philippe Parent (11), Marlène Rio (9), Joelle Roume (12), Francisco Suarez (13), Renaud Touraine (14), Alain Verloes (15), Catherine Vincent-Delorme (16), Benoit Arveiler (1), Didier Lacombe (17), Patricia Fergelot (1)

1. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de génétique médicale, CHU de bordeaux, Bordeaux, France
3. Unité de génétique, groupe hospitalier Armand Trousseau-La Roche-Guyon, Paris, France
4. Institut de génétique humaine, University Medical Center Mainz, Mainz, Allemagne
5. Neuropédiatrie, Institut Jérôme Lejeune, Paris, Paris, France
6. Service de génétique médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
7. Service de génétique médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
8. Unité de génétique clinique, hôpital Charles Nicolle, CHU de Rouen, Rouen, France
9. Département de génétique, groupe hospitalier Necker-enfants malades, Paris, France
10. Laboratoire de médecine génétique, CHUQ Pavillon CHUL, Saint Foy, Saint Foy, Canada
11. Département de pédiatrie et génétique médicale, hôpital Augustin Morvan, Brest, France
12. Unité de génétique médicale, CHI Poissy, Saint Germain en Laye, France
13. Service de génétique, hôpital « virgen de la salud », groupe hospitalier de Tolède, Tolède, Espagne
14. Service de génétique clinique et moléculaire, CHU Hôpital-Nord, Saint-Etienne, France
15. Département de génétique, CHU Robert Debré, Paris, France
16. Service de génétique médicale, centre hospitalier d'Arras, Arras, France
17. service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Van-Gils Julien (julien.vangils@gmail.com)

Le syndrome de Rubinstein-Taybi (RSTS) est une anomalie du développement, autosomique dominante, survenant dans 1 sur 125 000 naissances et caractérisé cliniquement par une dysmorphie touchant la face et les extrémités et un déficit intellectuel. A l'heure actuelle deux gènes sont impliqués dans ce syndrome, le gène CREBBP (16p13.3) représentant environ 65% des cas et le gène EP300 (22q13.2) 3%. Ces deux gènes homologues interviennent dans le remodelage de la chromatine et, en tant que co-activateurs transcriptionnels, interagissent avec plus de 300 facteurs protéiques. Seuls 7 cas EP300 sont décrits dans la littérature, apparemment associés à un phénotype moins sévère que CREBBP. Nous décrivons ici le phénotype et le génotype de 20 patients RSTS chez lesquels nous avons identifié une anomalie du

gène EP300. Les données cliniques ont été colligées à partir d'une fiche répertoriant les caractéristiques phénotypique de ce syndrome. Le retard de croissance était présent chez 88.9% des cas (16/18). Les anomalies cranio-faciale les plus fréquemment rencontrées ont été la microcéphalie (85% 17/20), la columelle saillante (90% 18/20) associée à un nez proéminent (80% 16/20) et large (65% 13/20) et des sourcils arqués (75% 15/20) avec des cils longs (82.3% 14/17). L'orientation des fentes palpébrales était répartie de manière équivalente : en bas et en dehors (55% 11/20) et horizontales (45% 9/20). Les anomalies typiques des extrémités ont été observées avec les pouces élargis (75% 15/20) et les hallux larges (90% 18/20). En revanche l'angulation radiale du pouce n'a été retrouvée chez aucun patient. Un déficit intellectuel a été décrit chez 17 cas sur 19 (89.5%) dans des degrés variables. Un seul cas présentait un retard sévère alors que 2 cas ne présentaient pas de retard intellectuel. Les malformations cardiaques étaient les plus décrites (42.1% 8/19) suivies des malformations rénales (36.8% 7/19). Sur le plan moléculaire, nous avons identifié 1 délétion interstitielle et 14 mutations ponctuelles réparties sur l'ensemble du gène (8 non-sens et 6 frameshift) et dans le domaine HAT : 1 mutation d'épissage, 1 délétion en phase et 3 mutations faux-sens de novo. Cette étude présente la plus importante cohorte de patients RSTS avec mutation EP300 décrite à ce jour. La plupart des signes typiques du phénotype RSTS sont retrouvés mais associés de façon variable. Ainsi la microcéphalie, les sourcils arqués et la saillie de la columelle sont inconstants. La déviation radiale du pouce, fréquemment décrite chez les patients CREBBP, n'est retrouvée chez aucun patient de cette cohorte. Chez les patients EP300, le déficit intellectuel est le plus souvent modéré, voire absent. Seuls 3 patients présentaient des phénotypes atypiques, dont 2 étaient mutés dans le dernier exon de EP300. Enfin les mutations faux-sens du domaine HAT identifiées sont associées à des phénotypes aussi sévères que les mutations perte de fonction, contrairement à ce qui est décrit pour CREBBP.

**Mots-clefs :** Syndrome de Rubinstein-Taybi, Gène EP300, Corrélations phénotype-génotype

## CS06/#169

### Implication des séquences régulatrices de SOX10 dans le syndrome de Waardenburg et la maladie de Hirschsprung

Nadege Bondurand (1), Laure Lecerf (1), Viviane Baral (1), Asma Chaoui (1), Anthula Kavo (1), Macarena Ruiz Ferrer (2), Yuli Watanabe (1), Virginie Fouquet (3), Tania Attie-Bitach (4), Philippe Labrune (5), Sandrine Marlin (6), Salud Borrego (2), Veronique Pingault (1,7)

1. INSERM U955, IMRB, Equipe 11, Hôpital Henri Mondor, Creteil, France
2. Department of Genetics, Reproduction and Fetal Medicine, Institute of Biomedicine of Seville IBIS, Seville, Espagne
3. AP-HP, Hôpital Bicêtre, Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Bicêtre, le Kremlin Bicêtre, France
4. INSERM U781, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. AP-HP, Hôpital Antoine Béclère, service de pédiatrie, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
6. Service de Génétique, Centre de référence «Surdités génétiques», INSERM U587, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
7. AP-HP, Hôpital H. Mondor - A. Chenevier, Service de Biochimie et Génétique, Créteil, France

**Auteur correspondant :** Bondurand Nadege (nadege.bondurand@inserm.fr)

SOX10, un facteur de transcription appartenant à la famille des gènes SOX (Sry box), joue un rôle central au cours du développement de la crête neurale (CN). Son implication dans le syndrome de Waardenburg de type 4, associant les caractéristiques cliniques du syndrome de Waardenburg (WS), anomalies de pigmentation et surdités) et de la maladie de Hirschsprung (HSCR, aganglionose intestinale), a notamment permis de souligner son importance au cours du développement du



système nerveux entérique et des mélanocytes, dérivés de la CN. Plus de 100 mutations ont été identifiées à ce jour, dans le WS4 mais aussi le WS2 (anomalies de pigmentation et surdité sans HSCR), le PCWH et PCW (WS4 ou WS2 + anomalies neurologiques) et de façon plus restreinte dans la maladie de Hirschsprung isolée, démontrant que le phénotype induit par des mutations de SOX10 est variable.

L'identification des séquences régulatrices de SOX10, qui sont actuellement au nombre de 13, et la validation de leur importance chez l'animal, nous a conduit à tester leur implication en pathologie chez l'homme. Nous avons dans un premier temps considéré une cohorte de 22 patients WS4 pour lesquels aucune mutation n'avait été identifiée. La recherche de délétions complètes ou partielles (ainsi que le séquençage de régions choisies) nous a permis de mettre en évidence la première délétion couvrant plusieurs de ces éléments régulateurs, 30kb en amont de SOX10. La caractérisation des bornes de cette délétion montre que le remaniement implique 3 séquences Alu localisées sur le chromosome 22, et pourrait impliquer un mécanisme réplicatif.

Le rôle essentiel de certaines des séquences au cours du développement des mélanocytes et ou du système nerveux entérique suggère qu'elles puissent être à l'origine de phénotypes partiels. Nous avons donc utilisé la même stratégie pour rechercher des délétions et mutations ponctuelles chez 28 patients présentant un WS2 et 144 patients présentant une HSCR isolée, tous sans explication moléculaire. Une mutation ponctuelle au sein de la séquence U1 a été identifiée chez un patient WS2, mais l'analyse de son retentissement fonctionnel suggère qu'elle n'est pas délétère. Une large délétion et deux mutations ponctuelles ont été identifiées chez trois patients HSCR. La délétion, qui présente un chevauchement conséquent avec celle identifiée précédemment, est de novo. Les deux mutations ponctuelles affectent le même élément régulateur et altèrent chacune un site de fixation pour des facteurs de transcription jouant un rôle au cours du développement de la CN : SOX10 et AP2a. Bien qu'héritées d'un parent asymptomatique, l'étude de leur retentissement fonctionnel in vitro suggère qu'elles contribuent au phénotype observé. Ces résultats conduiront à l'avenir à tester les séquences régulatrices de SOX10 dans d'autres neurocristopathies ou syndromes associés.

**Mots-clefs :** Waardenburg, Hirschsprung, SOX10

## CS07/#46

### Révision clinique du syndrome SHORT suite à la découverte du gène causal PIK3R1

Magali Avila (1), Martine Auclair (2), Laurence Duplomb (1), Martine Caron-Debarle (2), Judith St-Onge (1), Martine Le Merrer (3), Bernard Le Luyer (4), Delphine Héron (5), Michèle Mathieu-Dramard (6), Pierre Bitoun (7), Jean-Michel Petit (8), Sylvie Odent (9), Jeanne Amiel (3), Virginie Carmignac (1), Julien Thevenon (1,10), Nathalie Marie (1), Martine Laville (11), Yves Reznik (12), Cédric Fagour (13), Marie-Laure Nunes (13), Jacqueline Capeau (2), Olivier Lascols (2), Frédéric Huet (1), Laurence Faivre (1,10), Corinne Vigouroux (2), Jean-Baptiste Rivière (1), Christel Thauvin-Robinet (1,10)

- EA4271 "Génétique des Anomalies du Développement" (GAD), Université de Bourgogne, Dijon, France
- INSERM, UMR\_S938, Université Paris 06, Paris, France
- Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
- Service de Pédiatrie, CH Le Havre, Le Havre, France
- Département de Génétique et Centre de Référence "Déficiences intellectuelles de causes rares", La Pitié Salpêtrière, Paris, France
- Service de Génétique clinique, CHU Amiens, Amiens, France
- Service de Pédiatrie, CHU Jean Verdier, Bondy, France
- Service d'Endocrinologie, CHU Bocage, Dijon, France
- Service de Génétique clinique, CHU Rennes, Rennes, France
- FHU-TRANSLAD, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Est, CHU Dijon, France
- Département d'Endocrinologie, Diabétologie et Nutrition, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France
- Service d'endocrinologie, CHU Côte-de-Nacre, Caen, France

13. Département d' Endocrinologie, Hôpital Haut-Lévêque, CHU Bordeaux, Pessac, France

**Auteur correspondant :** Avila Magali (magali.avila@hotmail.fr)

Le syndrome SHORT se définit par son acronyme : une petite taille [Short stature (S)], une hyperlaxité articulaire ou hernie inguinale ou les deux [Hyperextensibility of joints or inguinal Hernia or both (H)], une énoptalmie [Ocular depression (O)], une anomalie de Rieger (R) c'est-à-dire une dysplasie irido-cornéenne et un retard à l'éruption des dents [Teething delay (T)]. Les bases génétiques de cette association rare, décrite chez une vingtaine de patients dans la littérature avec un mode de transmission probablement autosomique dominant demeuraient jusqu'à présent inconnues. Récemment, par une stratégie de séquençage d'exome par trio basée sur l'hypothèse de mutations de novo, nous avons identifié le gène PIK3R1 comme responsable du syndrome de SHORT chez 9 individus atteints de 8 familles différentes. En parallèle, deux autres articles rapportent également l'identification de mutations du gène PIK3R1 chez des patients atteints d'un syndrome SHORT : 11 cas supplémentaires provenant de 6 familles. Un « hot-spot » mutationnel a été mis en évidence chez 8 familles (c.1945C>T ; p.Arg649Trp). Au total, les 20 cas mutés publiés présentent un phénotype variable avec une atteinte pouvant être modérée: seulement 13/20 patients présentent au moins 3 des 5 signes de l'acronyme SHORT. L'hyperlaxité articulaire ou hernie inguinale ou les deux (3/18 cas) sont rares et l'anomalie de Rieger présente chez moins de la moitié des patients (8/19 cas). Un examen ophtalmologique doit systématiquement rechercher une anomalie de la chambre antérieure, que ce soit une anomalie de Rieger (8/19 cas) ou l'hypermétropie sévère, qui semble fréquente dans notre cohorte (4/5 cas), chez les patients non atteint d'une anomalie de Rieger. La dysmorphie faciale apparaît caractéristique avec une énoptalmie (18/18 cas), associée à une lipotrophie constante (17/17 cas), signe clinique majeur non présent dans l'acronyme.

Le gène PIK3R1 code pour les sous-unités régulatrices (p85 $\alpha$ , p55 $\alpha$  et p50 $\alpha$ ) de la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K), qui est connue pour jouer un rôle clé dans la signalisation de l'insuline à l'origine d'une insulino-résistance extrêmement fréquente (11/12 cas) et de l'apparition d'un diabète insulino-résistant à partir de l'adolescence (8/11 cas). Ces données ont motivé l'arrêt du traitement par hormone de croissance, mise en place chez deux enfants pour un RCIU persistant.

L'identification du gène PIK3R1 a permis de montrer que l'atteinte clinique du syndrome SHORT peut être modérée avec une fréquence faible de l'anomalie de Rieger à l'origine d'un probable sous-diagnostic. Les signes majeurs sont la lipotrophie et l'insulino-résistance, permettant de classer le syndrome SHORT parmi les formes syndromiques rares de résistance à l'insuline et démontrant l'importance de redéfinir les critères cliniques d'une maladie au regard de nouveaux résultats moléculaires.

**Mots-clefs :** syndrome SHORT, gène PIK3R1, Insulino-résistance

## CS08/#627

### Identification de mutations de novo d'un nouvel acteur de la méthylation de la lysine 36 de l'histone H3 dans le syndrome de Sotos

Armelle Luscan (1), Ingrid Laurendeau (2), Valérie Malan (3), Sylvie Odent (4), Fabienne Giuliano (5), Didier Lacombe (6), Renaud Touraine (7), Michel Vidaud (1), Eric Pasmant (1), Valérie Cormier-Daire (8)

- Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
- UMR\_S745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
- Service d'Histo-Embryo-Cytogénétique, Hôpital Necker, Paris, France
- Service de Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
- Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital l'Archet 2, Nice, France
- Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

7. Service de Génétique, CHU de Saint-Etienne, hôpital Nord, Saint-Etienne, France  
 8. Service de Génétique, UMR\_781 INSERM, Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Auteur correspondant :** Pasmant Eric (eric.pasmant@gmail.com)

Le syndrome de Sotos (SoS) est un gigantisme caractérisé par une croissance excessive durant l'enfance, une macrocéphalie, un visage aux traits caractéristiques et des difficultés d'apprentissage de degré variable, inconstamment associés à différents autres traits mineurs. Depuis sa première description en 1964, quelques cas familiaux à transmission autosomique dominante ont été rapportés. Le SoS présente un recouvrement phénotypique important avec un autre syndrome d'hypercroissance, plus rare, le syndrome de Weaver (WS), caractérisé par une avance d'âge osseux associée, entre autres, à des anomalies craniofaciales, neurologiques et des membres. Des mutations ponctuelles et des délétions du gène NSD1 (Nuclear receptor binding SET-Domain containing gene 1) sont responsables de plus de 75% des cas de SoS. NSD1 code une histone-méthyltransférase impliquée dans la diméthylation de la lysine 36 de l'histone H3 (H3K36), participant ainsi à la régulation épigénétique de l'état de compaction de la chromatine. Des mutations de NSD1 ont également été retrouvées chez des patients atteints de WS. Plus récemment, des mutations de novo du gène EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) ont été identifiées comme responsables du WS. EZH2 est la sous-unité catalytique du complexe polycomb 2 (PRC2) catalysant la triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27), impliquée dans la répression transcriptionnelle par modification de la compaction de la chromatine. Ainsi, des mutations constitutionnelles hétérozygotes perte de fonction des gènes NSD1 et EZH2 causent deux syndromes d'hypercroissance à grand recouvrement phénotypique, en altérant deux marques chromatiniennes : la méthylation de la lysine 36 et de la lysine 27 de l'histone H3, respectivement. Huit gènes impliqués dans la méthylation H3K36 (NSD1, NDS2, NSD3, SETD2, SETD3, ASH1L, SETMAR, SMYD2), 14 gènes impliqués dans la méthylation H3K27 (AEBP2, EED, EZH2, EZH1, HDAC2, JARID2, PCL1, PCL2, PCL3, RBBP4, RBBP7, SIRT1, SUZ12, UTX) et deux gènes d'histone H3 (H3.1: HIST1H3B et H3.3: H3F3A) ont été séquencés par NGS chez 17 patients atteints de SoS et WS sans mutation retrouvée de NSD1 ni d'EZH2. Des mutations hétérozygotes de novo perte de fonction d'un nouvel acteur de la méthylation de la lysine 36 de l'histone H3 ont été identifiées chez deux patients atteints de SoS. Ces résultats montrent l'intérêt de l'approche NGS ciblé pour identifier les variants responsables de maladies rares et confirment que le SoS est une maladie épigénétique impliquant la marque chromatinienne H3K36me, ouvrant de nouvelles possibilités thérapeutiques.

**Mots-clés :** Syndrome de Sotos, Polycomb Repressive Complexe 2, PRC2, H3K36

## Oncogénétique

CS09/#103

### Première démonstration d'une corrélation intra-familiale et de facteurs génétiques pronostiques de la survie dans la NEM1, une étude du Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines.

Françoise Archambeaud (1), Anne Barlier (2), Eric Baudin (3), Albert Beckers (4), Hélène Bihan (5), Christine Biquet (6), Françoise Borson-Chazot (7), Philippe Bouchardeau (8), Abderrahmane Bourredjem (9), Alain Calender (10), Catherine Cardot-Bauters (11), Philippe Caron (12), Emilie Castermans (13), Olivier Chabre (14), Philippe Chanson (15), Eric Clauser (16), Brigitte

Delemer (17), Hélène Du Boullay (18), Françoise Duron (19), Laurence Faivre (20), Sophie Giraud (10), Bernard Goichot (21), Pierre Goudet (22), Lionel Groussin (23), Isabelle Guilhem (24), Véronique Kerlan (25), Marc Kuhn (26), Pierre Lecomte (27), Catherine Lombard-Bohas (28), Arnaud Murat (29), Patricia Niccoli (30), Marie-Françoise Odou (31), Béatrice Parfait (32), Alfred Penformis (33), Michel Renard (34), Michel Rodier (35), Vincent Rohmer (36), Philippe Ruzsniwski (37), Jean-Louis Sadoul (38), Antoine Tabarin (39), Julien Thevenon (20), Bruno Verges (40), Georges Weryha (41)

1. Department of Internal Medicine and Endocrinology, Hôpital du Cluzeau, CHU de Limoges, Limoges, France
2. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital la Conception, Aix-Marseille University, CRN2M UMR 7286-CNRS, AP-HM, Marseille, France
3. Institute Gustave Roussy, Department of Nuclear Medicine and Endocrine Oncology, University of Paris-Sud, IGR, Villejuif, France
4. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire de Liège, Liège, Belgique
5. Service d'Endocrinologie, pôle des spécialités médicales, APHP, Centre Hospitalo-Universitaire Avicenne, AP-HP, Paris, France
6. INSERM, CIE1, et CHU de Dijon, Clinical Investigation Centre – Clinical Epidemiology/Clinical Trials, Université de Bourgogne, Dijon, France
7. 9 Groupement hospitalier Est, Fédération d'Endocrinologie, Hospices Civils de Lyon et Université LYON1, HCL, Lyon, France
8. Service d'Endocrinologie, Hôpital Saint Antoine, AP-HP, Paris, France
9. NSERM, CIE1, et CHU de Dijon, Clinical Investigation Centre – Clinical Epidemiology/Clinical Trials, CHU de Dijon, Dijon, France
10. Génétique moléculaire et Clinique, Hôpital E. Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. Service de Médecine interne et Endocrinologie, Clinique Marc Linquette, Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille, Lille, France
12. Service d'Endocrinologie, CHU de Toulouse, Pôle Cardio-Vasculaire et Métabolique, Maladies Métaboliques, Nutrition, Hôpital Larrey, CHU de Toulouse, Toulouse, France
13. Laboratoire de génétique moléculaire, Domaine Universitaire du Sart-Tilman, CHU de Liège, Liège, Belgique
14. Service d'Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques, CHU de Grenoble, Grenoble, France
15. Faculté de Médecine Paris-Sud, UMRS693; APHP, Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, Hôpital Bicêtre, University Paris-Sud, AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre, France
16. Laboratoire d'Oncogénétique, Faculté de Médecine Paris-Descartes-Paris-V, UMR-S970, AP-HP, Paris, France
17. Department of Endocrinology, CHU de Reims, Reims, France
18. Service d'endocrinologie, Centre Hospitalier Régional de Chambéry, Chambéry, France
19. Groupement Hospitalier Universitaire Est, Hôpital Saint Antoine, AP-HP, Paris, France
20. FHU Translad, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Université de Bourgogne, EA4271 GAD, CHU de Dijon, Dijon, France
21. Service de Médecine interne endocrinologie et nutrition, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
22. Service de Chirurgie Endocrinienne et Centre d'Epidémiologie des Populations EA 4184, CHU de Dijon, Dijon, France
23. Department of Endocrinology, Sorbonne Paris Cité, APHP, Hôpital Cochin, University Paris-Diderot, AP-HP, Paris, France
24. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Diabète et Maladies métaboliques, CHU de Rennes, Rennes, France
25. Department of Endocrinology, CHU Brest, Hôpital de la Cavale Blanche, Université de Bretagne Occidentale, Diabetes and Metabolic Diseases, CHU de Brest, Brest, France
26. Department of Endocrinology, CHU de Rouen, Rouen, France
27. Unit of Endocrinology, CHU de Tours, Tours, France
28. Service d'Oncologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
29. Clinique d'Endocrinologie, CHU de Nantes, Nantes, France
30. Service d'Oncologie Médicale, Institut Paoli-Calmettes, Université Aix-Marseille, AP-HM, Marseille, France
31. Service d'Hormonologie, Métabolisme-Nutrition, Oncologie, Pôle de Biologie Pathologie Génétique, Université de Lille2, CHRU de Lille, Lille, France
32. Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France
33. Service d'Endocrinologie, CHU de Besançon, Besançon, France
34. Service d'Endocrinologie, CHU de Nancy, Vandoeuvre-Les-Nancy, France
35. Service des maladies Métaboliques et endocriniennes, Hôpital Caremeau, CHRU Nîmes, Nîmes, France
36. Department of Endocrinology, CHU d'Angers, Angers, France
37. Service de Gastroentérologie-pancréatologie, Hôpital Beaujon, AP-HP, Paris, France
38. Service d'Endocrinologie, Hôpital de l'Archet, Nice, France
39. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire et Université de Bordeaux 2, CHU de Bordeaux, Pessac, France
40. Hôpital du Bocage, Service d'Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques, CHU de Dijon, Dijon, France

41. Département d'endocrinologie, CHU de Nancy, Vandoeuvre-Les-Nancy, France

**Auteur correspondant :** Thevenon Julien (julien.thevenon@chu-dijon.fr)

La Néoplasie endocrine multiple de type 1 (NEM 1), secondaire à des mutations du gène MEN1, est une maladie autosomique dominante rare qui prédispose les patients porteurs de la mutation à la survenue de tumeurs endocriniennes. Dans la littérature, les études de corrélation génotype-phénotype n'ont pas identifié de corrélation significative. Cependant, des patterns familiaux de risques tumoraux sont décrits, en particulier concernant la survenue de tumeurs thymiques.

Deux études sont présentées : la première se concentre sur les corrélations génotypes-phénotypes dans la NEM1 ; la seconde sur l'estimation des corrélations intra-familiales et le calcul de l'héritabilité des types tumoraux les plus fréquents par une approche dédiée.

Nous avons réalisé une étude de corrélation génotype phénotype basée sur cohorte de patients NEM1 des Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines. Les patients avec un diagnostic moléculaire et un suivi clinique ont été inclus, totalisant 262 familles et 806 patients. Les critères génotypiques et phénotypiques utilisés dans les précédentes études ont été repris en ajoutant la considération des domaines d'interaction protéique. Les corrélations ont été testées en utilisant le modèle des risques proportionnels de fragilité de Cox pour ajuster l'hétérogénéité potentielle entre les familles. Après ajustement sur le sexe, et prenant en compte l'hétérogénéité entre les familles, le risque global de décès était significativement plus élevé lorsque des mutations affectaient le domaine d'interaction avec JunD (RR-ajusté=1,88 ; IC-95% 1,15-3,75). Les patients avaient un risque plus élevé de décès par cancers du spectre NEM1 (RR-ajusté=2,34; IC-95% 1,23- 4,43).

Afin d'estimer les corrélations intr-familiales et de calculer l'héritabilité des différents types tumoraux, une approche dédiée a été envisagée. L'hétérogénéité entre les familles a été étudiée en calculant les coefficients de corrélation intrafamiliaux des types tumoraux avec le logiciel SAGE et un calcul d'héritabilité par le logiciel SOLAR. Trois types tumoraux démontrent une forte corrélation intrafamiliale : les tumeurs hypophysaires (héritabilité de 64% ; IQR : 0.13 ; p

Conclusion : Nous démontrons l'existence du premier facteur de pronostic moléculaire dans la NEM1 et une héritabilité forte de 3 types tumoraux. Ces résultats suggèrent l'existence de facteurs modificateurs forts et peu nombreux impliqués dans la survenue de certains types tumoraux de la NEM1.

**Mots-clefs :** Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1, Corrélations génotype-phénotype, Calcul d'héritabilité

## CS10/#57

### Etude clinique et moléculaire d'une cohorte de patients suspects de syndrome de Birt-Hogg-Dubé

Agnès Bourillon, Nathalie Clément, Bernard Grandchamp, Caroline Kannengiesser, Jérôme Lamoril, Angélique Riffault, Nadem Soufir  
Département de Génétique Moléculaire, Hôpital Bichat, Paris, France

**Auteur correspondant :** Lamoril Jérôme (jerome.lamoril@bch.aphp.fr)

De 2005 à 2013, 227 patients suspects du syndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHD, Omim 135150) ont été analysés. Il s'agit classiquement d'une maladie de transmission autosomique dominante caractérisée par l'association d'un ou plusieurs signes cliniques: a) présence de fibrofolliculomes, b) une maladie kystique pulmonaire, c) au moins un pneumothorax spontané, e) un cancer rénal (sujet de moins de 50 ans), bilatéral ou multifocal dont l'histologie est évocatrice (oncocytome et/ou chromophobe), f) atteinte d'un apparenté au premier degré. Les patients étaient adressés par des dermatologues (38%), des pneumologues (46%)

et des urologues (16%). L'analyse moléculaire pour suspicion d'un syndrome de Birt-Hogg-Dubé était réalisée devant la présence d'au moins un des signes cliniques suivants : présence de fibrofolliculomes (> 5), existence de kystes pulmonaires associés ou non à un ou plusieurs pneumothorax spontané(s), présence d'une tumeur rénale (bilatérale ou multifocale à l'histologie évocatrice). Ces signes étaient associés ou présents isolément dans le cadre d'une histoire familiale. L'analyse moléculaire a été effectuée par séquençage bidirectionnel et en cas de négativité, par MLPA (MRC-Holland). 64 mutations ont été identifiées (28% des patients) dont 23 décalages de lecture (36%), 28 mutations ponctuelles (44%), 2 mutations sans décalage de phase (3%) et 11 réarrangements géniques (17%). On observe une hétérogénéité moléculaire et l'absence de corrélation génotype/phénotype. Quelques mutations sont plus fréquentes : délétion de l'exon 1 (3 patients), 1285dupC/p.His429Profs\*27 dans l'exon 11 (5 patients) et c.del1376\_1407 (p.Ser459Trpdel32fs\*16) dans l'exon 12 (5 patients). Chez les patients mutés, 88% présentaient des fibrofolliculomes (âge moyen d'apparition : 35 ans - histoire familiale dans 84%), 56% un pneumothorax spontané (plusieurs épisodes dans 2/3 des cas – Age moyen d'apparition 34 ans - histoire familiale dans 52% des cas), 83% des kystes pulmonaires (antécédents familiaux dans 1/3 des cas). Un cancer du rein est retrouvé dans 11% des cas (âge moyen du diagnostic, 48 ans - 1/2 bilatéral). 12% des patients présentaient des kystes rénaux. Différents cancers ont aussi été retrouvés (cancer du colon : 2 patients ; cancer de la thyroïde : 2 patients et mélanome : 3 patients). Aucune mutation n'a été retrouvée chez 2 patients au phénotype caractéristique de BHD : un exome a été programmé. Chez les 144 autres patients, aucune mutation n'a été identifiée. Notre recrutement ayant été large, beaucoup de ces patients ne sont probablement pas atteints par ce syndrome. L'ensemble des patients mutés répond aux critères du consortium européen du syndrome de Birt-Hogg-Dubé. En conclusion, cette analyse démontre l'hétérogénéité génétique de la maladie et l'absence de corrélation génotype/phénotype. Elle nous a aussi permis de recadrer nos critères d'analyse à destination des cliniciens en cas de suspicion de syndrome de Birt-Hogg-Dubé.

**Mots-clefs :** Kystes pulmonaires avec ou sans pneumothorax, tumeur rénale, fibrofolliculome

## CS11/#296

### Validation par l'étude DOCC du Déterminisme Oligogénique du Cancer Colorectal

Stéphanie Baert-Desurmont (1), Françoise Charbonnier (1), Estelle Houivet (2), Lorena Ippolito (3), Jacques Mauillon (4), Marion Bougeard (3), Anaïs Dumesnil (3), Caroline Abadie (5), David Malka (6), Jacqueline Duffour (7), Françoise Desseigne (8), Chrystelle Colas (9), Pascal Pujol (10), Sophie Lejeune (11), Catherine Dugast (5), Bruno Buecher (12), Laurence Olivier-Faivre (13), Dominique Leroux (14), Paul Gesta (15), Isabelle Coupié (10), Rosine Guimbaud (16), Pascaline Berthet (17), Sylvie Manouvrier (11), Estelle Cauchin (18), Fabienne Prieur (19), Pierre Laurent-Puig (20), Marine Lebrun (19), Philippe Jonveaux (21), Jean Chiesa (22), Olivier Caron (6), Emmanuelle Morin-Meschin (23), Florence Polycarpe-Osaer (17), Sophie Giraud (24), Aziz Zaanani (20), Delphine Bonnet (25), Ludovic Mansuy (26), Valérie Bonadona (8), Salima El Chehadeh (13), François Duhoux (27), Marion Gauthier Villars (12), Jean-Christophe Saurin (24), Marie-Agnès Collonge-Rame (28), Laurence Briquères (6), Qing Wang (29), Brigitte Bressac-de Paillerets (6), Jean-Marc Rey (30), Christine Toulas (16), Marie-Pierre Buisine (31), Myriam Bronner (21), Joanna Sokolowska (21), Agnès Hardouin (17), Anne-Françoise Cailleux (32), Hakim Sebaoui (33), Julien Blot (33), Jacques Benichou (2), Julie Tinat (1), Thierry Frébourg (1)

- Département de Génétique et Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France
- Département de Biostatistiques, CHU de Rouen, Rouen, France
- Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Rouen, France
- Département de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
- Service d'Oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer E. Marquis et CHU, Rennes, France
- Département d'Oncogénétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France



7. Service d'Oncogénétique, Centre de lutte contre le Cancer Val d'Aurelle, Montpellier, France
8. Service d'Oncogénétique, Centre de lutte contre le Cancer Léon Bérard, Lyon, France
9. Département de Génétique, AP-HP, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
10. Service de Génétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
11. Département de Génétique, CHU de Lille, Lille, France
12. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
14. Service de Génétique Médicale, CHU de Grenoble, Grenoble, France
15. Service d'Oncogénétique, Centre Hospitalier de Niort, Niort, France
16. Service d'Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France
17. Service d'Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
18. Service d'Oncogénétique, CHU de Nantes, Nantes, France
19. Service de Génétique, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
20. Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
21. Service de Génétique, CHU de Nancy, Vandoeuvre-les-Nancy, France
22. Service de Génétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
23. Service de Génétique, CHU d'Angers, Angers, France
24. Service de Génétique, CHU de Lyon, Lyon, France
25. Service de Génétique, CHU de Toulouse, Toulouse, France
26. Service de Médecine Oncologique, Centre Alexis Vautrin, Vandoeuvre-les-Nancy, France
27. Service d'Oncogénétique, Centre du Cancer, Cliniques Universitaires St-Luc, Bruxelles, Belgique
28. Service de Génétique, CHU de Besançon, Besançon, France
29. Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Centre de lutte contre le Cancer Léon Bérard, Lyon, France
30. Service d'Oncogénétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
31. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Lille, Lille, France
32. Centre d'Investigation Clinique, CHU de Rouen, Rouen, France
33. Département de Recherche Clinique, CHU de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Baert-Desurmont Stéphanie (stephanie.baert-desurmont@chu-rouen.fr)

La majorité des situations cliniques évocatrices d'un risque génétique augmenté de cancer colorectal (CCR) ne peuvent s'expliquer par un modèle monogénique simple. L'hypothèse à l'origine de ce projet est qu'une fraction de ces situations résulte de la combinaison d'un nombre limité de variations génétiques, conférant chacune un risque modéré de CCR, mais dont la combinaison est à l'origine d'un risque important. De multiples études d'association pangénomiques, réalisées souvent sur des groupes hétérogènes, ont identifié ces dernières années de nombreux SNPs conférant des risques relatifs de l'ordre de 1.2. Nous avons réalisé une étude d'association cas-contrôles comparant les fréquences de SNPs associés au CCR, en sélectionnant 1029 patients sur des critères homogènes (un CCR chez deux apparentés au premier degré dont l'un diagnostiqué avant 61 ans; ou un CCR avant 51 ans; ou des CCRs primitifs multiples chez un même patient, le premier avant 61 ans; exclusion des entités Mendéliennes connues) et 350 témoins appropriés définis par l'absence d'antécédents de CCR personnel ou chez un apparenté au premier degré. Le génotypage des SNPs a été réalisé sur ADN par la méthode de SNaPshot. Pour chaque SNP, la comparaison de la fréquence des génotypes entre témoins et patients a été effectuée par les tests du Chi2 ou de Fisher puis les Odds Ratios (OR) ont été estimés par régression logistique. Nos résultats ont répliqué l'association significative entre le CCR et 4 SNPs, en révélant des OR alléliques plus élevés que ceux publiés: rs16892766 en 8q23.3 situé à proximité d'EIF3H (OR: 1.89; p=0.0006); rs4779584 en 15q13 situé à proximité de GREM1 (OR: 1.45; p=0.0033) et les rs4939827 et rs58920878/Novel 1 en 18q21.1, formant un bloc haplotypique dans l'intron 3 de Smad7 (OR: 1.49; p=0.0061 et OR: 1.48; p=0.0039). Nous avons alors étudié l'impact de la combinaison de ces 3 locus en 8q23, 15q13 et 18q21.1 en comparant entre patients et témoins avec le test de tendance de Cochran Armitage, soit la distribution du nombre d'allèles à risque (1 à 6), soit la distribution du nombre de génotypes à risque (1 à 3). De façon remarquable, nous avons observé dans les 2 cas une différence très significative (p

**Mots-clefs :** Risque de cancer colorectal, Déterminisme Oligogénique du cancer colorectal, Combinaison de génotypes à risque

CS12/#272

## Syndrome CMMR-D (congenital mismatch repair deficiency) : description clinique dans une série française

Noémie Lavoine (1), Chrystelle Colas (2), Gwendoline Sebillé (3), Odile Cabaret (4), Cécile Charpy (5), Thierry Frébourg (6), Natacha Entz-Werle (7), Qing Wang (8), Sophie Lejeune (9), Dominique Leroux (10), Gérard Couillault (11), Guy Leverger (12), Martine Muleris (13), Olivier Caron (14), Laurence Brugières (1)

1. Département de cancérologie de l'enfant et de l'adolescent, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Laboratoire d'oncogénétique et d'angiogénétique, Département de génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Département de dermatologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Département de biologie et pathologie médicales, Service de génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Département d'anatomo-pathologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
6. Laboratoire de génétique, Hôpital universitaire, Rouen, France
7. Département d'oncologie pédiatrique, Centre hospitalier universitaire, Strasbourg, France
8. Plateforme mixte de génétique constitutionnelle des cancers fréquents HCL-CLB, Centre Léon Bérard, Lyon, France
9. Département de génétique clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
10. Département de génétique, Hôpital universitaire, Grenoble, France
11. Département de pédiatrie, Hôpital universitaire, Dijon, France
12. Département d'hématologie et d'oncologie pédiatriques, Hôpital d'enfants Armand Trousseau, Paris, France
13. INSERM / UMR S938, Equipe "Instabilité des microsatellites et cancer", Centre de Recherche Saint-Antoine, Paris, France
14. Département de médecine oncologique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

**Auteur correspondant :** Brugières Laurence (laurence.brugieres@gustaveroussy.fr)

**Introduction.** Le syndrome CMMR-D (constitutive mismatch repair deficiency) est un syndrome de prédisposition aux cancers de l'enfant, de l'adolescent et du jeune adulte dû à une mutation biallélique homozygote ou hétérozygote composite des gènes MMR (MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2). Le syndrome CMMR-D est peu décrit, confondu avec d'autres syndromes de prédisposition au cancer, et pour ces raisons, probablement sous-diagnostiqué.

**Méthodes.** Revue rétrospective de 23 cas de CMMR-D issus de 17 familles, diagnostiqués dans des laboratoires de génétique en France. Les caractéristiques cliniques des patients atteints de CMMR-D ont été vérifiées par l'accès à leur dossier clinique. Les traitements reçus et l'évolution des cancers ont également été répertoriés, ainsi que les éléments biologiques ayant conduit au diagnostic de CMMR-D.

**Résultats.** Une histoire familiale de cancer était retrouvée dans 65% des familles de cas de CMMR-D, dont la moitié remplissait les critères permettant d'évoquer un syndrome de Lynch dans au moins une branche parentale, et un contexte de consanguinité était retrouvé dans 35% des familles. Les mutations de PMS2 et MSH6 étaient plus fréquentes et moins létales que les mutations de MLH1 et MSH2. Les 23 patients ont développé un total de 47 tumeurs, dont 14 (30%) étaient des hémopathies malignes, 15 (32%) des tumeurs cérébrales, 16 (34%) des cancers appartenant au spectre du syndrome de Lynch, et 2 (4%) sarcomes. 14 des 23 patients ont développé au moins deux cancers. L'âge médian au diagnostic de la première tumeur était 6,3 ans [1,23-22]. La survie globale à 2 ans était de 52% après le premier cancer. La moitié des décès étaient liés à l'évolution de la première tumeur. La survie médiane après le diagnostic de la première tumeur était de 18,22 mois [0,26-213,2]. Aucun excès de toxicité lié aux traitements anticancéreux n'a été mis en évidence. 19 (83%) patients présentaient des taches café-au-lait ou de macules dépigmentées et 4 (17%) étaient porteurs d'éléments malformatifs intracérébraux, sans lien évident avec une neurofibromatose de type I.

**Conclusion.** Le syndrome CMMR-D est un syndrome de prédisposition au cancer précoce et au pronostic sombre. Son



identification est indispensable pour la mise en place d'une surveillance spécifique chez les apparentés. Sa rareté requiert une collaboration internationale des généticiens et oncologues pédiatres afin de définir les critères diagnostiques et de déterminer des guidelines pour la surveillance et la prévention des sujets à risque.

**Mots-clefs :** CMMR-D, prédisposition, cancers pédiatriques

## CS13/#619

### Apport du séquençage haut débit dans la détection et la quantification des mosaïques : le rétinoblastome comme modèle d'étude

Catherine Dehainault (1), Julien Tarabeux (1), Lisa Golmard (2), Agathe Charpin (1), Anthony Laugé (1), Isabelle Aerts (3), Laurence Desjardins (4), Dominique Stoppa-Lyonnet (5), Marion Gauthier-Villars (1), Claude Houdayer (5)

1. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Service de Génétique, Inserm U830, Institut Curie, Paris, France
3. Service d'Oncologie pédiatrique, Institut Curie, Paris, France
4. Service d'Oncologie chirurgicale, Institut Curie, Paris, France
5. Service de Génétique, Inserm U830, Institut Curie, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Auteur correspondant :** Houdayer Claude (claude.houdayer@curie.fr)

Le mosaïcisme joue un rôle majeur dans la variabilité de l'expressivité et la pénétrance des maladies génétiques. Le séquençage haut débit, en améliorant la détection et la quantification de mutations présentes, est un outil de choix pour l'étudier. Le rétinoblastome sporadique, unilatéral ou bilatéral, est un bon modèle car secondaire à des néomutations de RB1, germinales ou post zygotiques.

Nous avons donc entrepris une recherche systématique du mosaïcisme leucocytaire dans le rétinoblastome par séquençage en Personal Genome Machine (PGM, Life Technologies) afin d'évaluer la corrélation au phénotype et les risques de récurrence associés aux mosaïques.

**Corrélation au phénotype :**

Chez 122 enfants porteurs d'une atteinte bilatérale ou unilatérale non familiale et chez lesquels les mutations inactivatrices RB1 avaient été identifiées dans la tumeur, nous avons recherché leur présence par PGM à grande profondeur au niveau leucocytaire. Pour les 16 cas bilatéraux, au moins une des deux mutations recherchées a été détectée à des taux variant entre 4% à 50%. En revanche, pour les 106 cas unilatéraux, 8 mutations ont été détectées à des taux variant entre 1 et 18%, 33 sous le seuil de 1% et aucune pour les 65 cas restants. Il existe ainsi une corrélation entre la sévérité de l'atteinte et le niveau de mosaïque leucocytaire. Risque de récurrence :

La présence d'une mutation constitutionnelle chez un enfant atteint et non retrouvée en Sanger chez ses parents indemnes ne permet pas de différencier une néomutation gonadique de l'un des deux parents d'une mutation post-zygotique survenue chez l'enfant. L'identification par le PGM d'une mutation faiblement représentée dans l'ADN leucocytaire d'un des deux parents apporte la réponse. Nous avons ainsi retenu 125 trios parents-enfant atteint avec mutation constitutionnelle identifiée chez l'enfant et non chez ses parents. La reprise en PGM des enfants a quantifié la mutation sous 40% dans 10 cas, démontrant déjà le statut mosaïque somatique de l'enfant et donc le caractère de novo de la mutation et ainsi l'absence de risque de récurrence dans la fratrie. Dans les 115 trios restant un seul parent apparaît porteur en mosaïque leucocytaire, à un taux de 11%.

Ces données montrent l'importance de la fréquence des mosaïques post-zygotiques chez les enfants. L'analyse de la récurrence de rétinoblastome dans la fratrie de 127 cas sporadiques portant une mutation constitutionnelle de RB1 a mis en évidence un seul cas de récurrence parmi les 199 enfants nés dans ces fratries. Ceci renforce cette observation.

Ces résultats montrent l'intérêt du séquençage à grande profondeur dans l'exploration des mosaïques. Ils confortent l'importance du mosaïcisme dans les corrélations génotype-phénotype mais l'éclairent aussi sous un jour nouveau en montrant que le risque de mosaïque gonadique dans le rétinoblastome est plus faible qu'annoncé, l'origine de la mutation étant plutôt post-zygotique chez l'enfant atteint.

**Mots-clefs :** Mosaïque, Rétinoblastome, PGM

## CS14/#264

### Diagnostic moléculaire des prédispositions aux cancers du sein et de l'ovaire par Séquençage de Nouvelle Génération et capture d'un panel de gènes

Laurent Castéra (1,2), Sophie Krieger (1,2,3), Antoine Rousselin (1), Angelina Legros (1), Jean-Jacques Baumann (1), Olivia Bruet (1), Baptiste Brault (1), Robin Fouillet (1), Nicolas Goardon (1), Olivier Letac (1), Stéphanie Baert-Desurmont (2,4), Julie Tinat (2,4), Odile Bera (5), Catherine Dugast (6), Pascaline Berthet (7), Florence Polycarpe (7), Valérie Layet (8), Agnes Hardouin (1,2), Thierry Frébourg (2,4,9), Dominique Vaur (1,2)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CLRC François Baclesse, Caen, France
2. Inserm U1079, France
3. Université de Caen, France
4. Département de Génétique,
5. Département de Génétique, Hôpital de Fort de France, France
6. Département de Génétique, CHRU de Rennes, France
7. Département de Génétique, CLRC François Baclesse, Caen, France
8. Département de Génétique, Hôpital Jacques Monod, Le Havre, France
9. Université de Rouen, France

**Auteur correspondant :** VAUR Dominique (D.VAUR@baclesse.fr)

Afin d'optimiser le diagnostic moléculaire des prédispositions au cancer du sein et de l'ovaire, et d'explorer la contribution des gènes suspectés d'être impliqués dans cette prédisposition, nous avons développé une stratégie de Séquençage de Nouvelle Génération (NGS) basée sur la capture d'un panel de gènes, l'indexation et le pooling des ADN avant enrichissement en phase liquide, l'automatisation de la préparation des librairies et le séquençage sur plateforme Illumina (Gallx) puis confirmation des altérations détectées par séquençage Sanger ou MLPA/QMPSF. Les analyses bioinformatiques automatisées ont été développées à partir des logiciels CASAVA, NextGene, CNVseq et Alamut-HT. Nous avons d'abord validé cette stratégie avec l'ADN de 59 patients présentant des SNV, indels ou des réarrangements génomiques de BRCA1 et de BRCA2, représentatifs du spectre mutationnel. Nous avons également réalisé une analyse en aveugle comparant les résultats de 168 nouveaux patients obtenus par NGS et par les analyses conventionnelles (DHPLC, HRM, MLPA, QMPSF). Toutes les variations connues ou mise évidence par les techniques conventionnelles ont été identifiées par NGS. Nous avons alors analysé par NGS une grande série prospective de 708 patients en utilisant 3 versions du panel de gènes, incluant de 21 à 28 gènes. Nous avons détecté 69 mutations délétères de BRCA1 et BRCA2. Sur 468 patients testés pour TP53, 4 étaient porteurs d'une mutation de TP53. De plus, 36 autres variations induisant un codon stop prématuré ou un défaut d'épissage ont été mises en évidence sur les autres gènes de la capture : 5/708 dans CHEK2, 3/708 dans RAD51C, 1/708 dans RAD50, 7/708 dans PALB2, 3/708 dans MRE11A, 5/708 dans ATM, 3/708 dans NBS1, 1/708 dans CDH1, 3/468 dans MSH2, 2/468 dans PMS2, 1/708 dans BARD1, 1/468 dans PMS1 and 1/468 dans MLH3. Des études de ségrégation seront nécessaires pour confirmer l'effet délétère de ces mutations. En conclusion, ces résultats démontrent la performance du NGS appliqué au diagnostic des prédispositions au cancer du sein et de l'ovaire. L'implémentation de cette nouvelle stratégie nous permet de réaliser au moins 1000 analyses complètes de BRCA1/BRCA2 par an et de réduire nos délais de rendu de résultats, chaque analyse étant complétée et validée en 3 mois. La détection de mutations d'autres gènes inclus dans notre panel confirme

l'hétérogénéité génétique de la prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire. S'il semble justifié d'inclure au titre du diagnostic le gène TP53, en particulier chez les femmes présentant un cancer du sein avant 31 ans, compte-tenu du risque de la radiothérapie chez les porteurs de mutation de TP53 et à condition de les avoir informées lors de la consultation de l'impact d'un test positif, les données actuellement disponibles pour les autres gènes sont insuffisantes pour considérer que leurs mutations ont une valeur diagnostique. **Mots-clés** : NGS, BRCA, panel de gènes

**CS15/#69**

## Mutations constitutionnelles des gènes des Inhibines dans les formes précoces de tumeurs épithéliales ovariennes

Isabelle TOURNIER (1), Régine MARLIN (1), Kelly WALTON (2), Françoise CHARBONNIER (1), Sophie COUTANT (1), Jean-Christophe THERY (1), Camille CHARBONNIER (1), Cailyn SPURRELL (3), Myriam VEZAIN (1), Lorena IPPOLITO (1), Gaëlle BOUGEARD (1), Horace ROMAN (4), Julie TINAT (5), Jean-Christophe SABOURIN (6), Dominique STOPPA-LYONNET (7), Brigitte BRESSAC-DE-PAILLERETS (8), Olivier CARON (9), Dominique VAUR (10), Mary-Claire KING (3), Craig HARRISON (2), Thierry FREBOURG (1)

1. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, ROUEN, France
2. Growth Factor Signalling Laboratory, Prince Henry's Institute of Medical Research, CLAYTON, Australie
3. Department of Medicine and Genome Sciences, University of Washington School of Medicine, SEATTLE, USA
4. Département de Gynécologie Obstétrique, CHU de Rouen, ROUEN, France
5. Département de Génétique, CHU de Rouen, ROUEN, France
6. Département de Pathologie, CHU de Rouen, ROUEN, France
7. Département de Génétique, Institut Curie, Inserm U830, Université Paris Descartes, PARIS, France
8. Département de Génétique, Institut Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
9. Département de Médecine, Institut Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
10. Département de Génétique des Cancers, CLCC François Baclesse, CAEN, France

**Auteur correspondant** : FREBOURG Thierry (thierry.frebou@chu-rouen.fr)

Dans le but d'identifier de nouvelles bases génétiques à l'origine des cas précoces de tumeurs épithéliales ovariennes, nous avons analysé par séquençage exomique de trio (cas index/parents sains) une patiente ayant présenté, à l'âge de 21 ans, un adénocarcinome séreux ovarien bilatéral métastatique en l'absence de toute histoire familiale de cancer. Cette stratégie d'exomes soustractifs nous a permis d'identifier chez cette patiente une mutation de novo (p.Asn386Ser) dans le gène INHBA codant la sous-unité  $\beta$ A des inhibines et des activines qui jouent un rôle crucial dans le développement ovarien. In vitro, nous avons montré que cette mutation p.Asn386Ser altère le ratio d'activines et d'inhibines sécrétées. En analysant par séquençage Sanger le gène INHBA et son partenaire le gène INHA chez 14 autres patientes ayant développé une tumeur épithéliale ovarienne avant l'âge de 40 ans sans mutation des gènes BRCA1/BRCA2, nous avons identifié une mutation constitutionnelle non décrite du gène INHA codant la sous-unité  $\alpha$  des activines/inhibines. Cette mutation p.Arg60Leu a été détectée chez une patiente ayant développé un cystadénome séreux papillaire borderline à l'âge de 29 ans. In vitro, cette mutation altère également le ratio d'activines et d'inhibines sécrétées en réduisant la production d'inhibine A et d'inhibine B. Pour déterminer si les mutations constitutionnelles des gènes des inhibines représentent une cause fréquente de cancers précoces de l'épithélium ovarien, nous avons recherché les mutations des gènes INHBA et INHA dans une cohorte de 62 autres patientes françaises ayant développé un cancer épithélial ovarien avant l'âge de 40 ans et pour lesquelles l'analyse des gènes BRCA1 et BRCA2 n'avait pas révélé de mutation délétère. Cette analyse nous a permis de mettre en évidence une nouvelle mutation du gène INHBA (p.Gly280Glu) non répertoriée dans les bases de données. De plus, nous avons également détecté plusieurs variants non-synonymes de ces gènes déjà décrits dans les bases de données mais associés à une faible fréquence allélique. Des analyses

statistiques adaptées à l'étude de variants rares réalisées sur les 76 cas analysés dans notre étude et sur 2 populations caucasiennes extraites des bases de données des 1000 génomes et du Exome Sequencing Project révèlent un enrichissement significatif en variants rares non-synonymes de ces gènes dans notre population de patientes. L'ensemble de ces résultats suggère donc que les mutations constitutionnelles des inhibines contribuent au déterminisme génétique des formes précoces de cancers épithéliaux de l'ovaire.

**Mots-clés** : Cancer précoce de l'ovaire, Mutation des Inhibines, Séquençage exomique

**CS16/#44**

## Bilan de 10 ans de DPI en oncogénétique au CHU de Montpellier

Isabelle Coupier (1,3), Marjolaine Willems (1), Christine Coubes (1), Tal Anahory (2), Sophie Deveaux (3, 5), Pascal Pujol (1), Marion Gauthier Villard (4), Stéphane Richard (3,5), Mireille Claustres (6,7), Anne Girardet (6,7,3)

1. GENETIQUE, CHU ARNAUD DE VILLENEUVE, MONTPELLIER, France
2. GYNECOLOGIE, CHU ARNAUD DE VILLENEUVE, MONTPELLIER, France
3. Centre PREDIR (PREDIposition aux tumeurs du rein)
4. GENETIQUE, INSTITUT CURIE, PARIS, France
5. GENETIQUE, LE KREMLIN BICETRE, PARIS, France
6. BIOLOGIE MOLECULAIRE, INSERM U827, MONTPELLIER, France
7. BIOLOGIE MOLECULAIRE, CHU, MONTPELLIER, France

**Auteur correspondant** : COUPIER ISABELLE (i-coupi@chu-montpellier.fr)

L'activité de diagnostic préimplantatoire a débuté dans notre centre en 2003. Nous présentons ici le bilan de 10 ans d'expérience de DPI en oncogénétique pour la maladie de VHL, le rétinoblastome, la polypose adénomateuse familiale, le syndrome de Li-Fraumeni et le syndrome de Peutz-Jeghers, maladies transmises sur un mode autosomique dominant.

Depuis 2003, 94 couples ont fait une demande de DPI en oncogénétique au CHU de Montpellier : 27 couples pour la maladie de von Hippel Lindau, 34 couples pour un rétinoblastome, 27 couples pour une polypose adénomateuse familiale, 4 couples pour le syndrome de Li-Fraumeni et 2 couples pour le syndrome de Peutz-Jeghers.

Un diagnostic à l'échelle unicellulaire a été mis au point pour chacune de ces pathologies, à l'exception du syndrome de Li-Fraumeni (aucune demande n'ayant à ce jour atteint le stade de la mise au point technique). Le DPI associe généralement une étude directe de la mutation causale identifiée dans chaque famille, à une étude indirecte par analyse de marqueurs microsatellites (entre 7 et 9 selon les maladies).

L'analyse moléculaire pré-DPI a été réalisée pour 41 familles (14 VHL : 9 hommes et 5 femmes ; 17 Rb : 8 hommes et 9 femmes ; 9 APC : 6 hommes et 3 femmes et 1 couple pour le syndrome de Peutz-Jeghers : 1 homme). Quatre autres couples sont en cours d'étude de faisabilité génétique pré-DPI (2 pour VHL et 2 pour APC). Par ailleurs, cinq couples (1 pour VHL, 1 pour Rb, 2 pour APC et 1 pour syndrome de Peutz-Jeghers) sont en cours de bilan pré-FIV afin de déterminer la possibilité d'une stimulation ovarienne, indispensable pour réaliser un DPI. L'analyse moléculaire des autres familles n'a pas été effectuée pour différentes raisons : arrêt de la démarche du couple, grossesses spontanées, refus de l'indication par le CPDPN, bilan de réserve ovarienne incompatible avec une stimulation ovarienne, évolution de la maladie ou hépatite B active chez l'un des membres du couple (le CHU de Montpellier n'ayant pas les agréments nécessaires à la prise en charge en FIV de ces couples).

Au total, 8 grossesses ont été obtenues pour 6 couples (dont 3 grossesses gémeillaires) pour la maladie de VHL, 6 grossesses pour 6 couples (dont 2 grossesses gémeillaires) pour le rétinoblastome et 3 grossesses pour 3 couples (dont 1 grossesse gémeillaire) pour la polypose adénomateuse familiale. Au total, 15 bébés sont nés (9 pour VHL, 3 pour Rb et 3 pour APC) et 5

grossesses sont actuellement en cours (1 grossesse gémellaire pour VHL, 3 grossesses pour Rb et 1 pour APC).

Le délai moyen entre la demande du couple et le premier cycle de DPI programmé est de l'ordre de 15 mois. Le recours au DPI reste une possibilité de ne pas transmettre l'anomalie génétique à ses futurs enfants. Les taux de réussite restent très fortement corrélés à l'âge de la patiente au moment de la tentative.

**Mots-clefs** : DPI, oncogénétique, VHL/RB/APC/TP53/STK11

## Génétique des populations et maladies complexes

CS17/#31

### Différenciation génétique des populations humaines pour les gènes de la réponse aux médicaments

Emmanuelle Génin (1), Hafid Laayouni (2), Sébastien Letort (1), Pierre Luisi (2), Blandine patillon (3), Audrey Sabbagh (3)

1. Inserm U1078 " Génétique, Génomique fonctionnelle et Biotechnologies", UBO EFS Bretagne, Brest, France  
2. Institute of Evolutionary Biology, CEXS-UPF-PRBB, Barcelone, Espagne  
3. IRD, UMR216, Mère et enfant face aux infections tropicales, Faculté de Pharmacie, Paris, France

**Auteur correspondant** : Patillon Blandine (blandine.patillon@inserm.fr)

Au cours de son histoire évolutive, l'Homme a été confronté à des changements de son environnement chimique qui ont entraîné des pressions de sélection naturelle sur les gènes impliqués dans la réponse aux xénobiotiques. Ces phénomènes d'adaptation locale influencent aujourd'hui la distribution dans les populations humaines d'un grand nombre de variants génétiques impliqués dans les différences de réponse aux médicaments. L'analyse conjointe des profils de différenciation génétique globale des populations humaines et des signatures de sélection naturelle dans les régions génomiques contenant les pharmacogènes peut ainsi permettre d'identifier les variants génétiques plus particulièrement impliqués dans ces phénomènes d'adaptation et qui pourraient contribuer à la variabilité de réponse aux médicaments observée entre les populations humaines. Dans l'objectif d'identifier de tels variants d'intérêt, nous avons systématiquement analysé les profils de différenciation génétique des populations pour les gènes majeurs de la réponse aux médicaments. Les 45 gènes VIP (Very Important Pharmacogenes), connus pour jouer un rôle important dans les processus pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des médicaments, ont été analysés. Le degré de différenciation inter-populationnelle, mesuré par l'indice FST, a été calculé pour l'ensemble des variants des gènes VIP en utilisant les données de fréquence du Projet 1000 Génomes qui inclut 14 populations humaines de quatre régions continentales. A partir des données de fréquence génome entier du Projet 1000 Génomes, nous avons construit huit distributions empiriques tenant compte de la position physique et de la fonction de ces variants (non géniques, géniques, introniques, 5'-UTR, 3'-UTR, sites d'épissage, substitutions synonymes et substitutions non synonymes). Une approche outier basée sur ces distributions nous a permis de mettre en évidence un profil de différenciation extrême pour 15 variants situés dans dix gènes VIP différents (ADH1A, ADH1B, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, DRD2, P2RY1, SULT1A1, VDR et VKORC1). Pour huit d'entre eux, nous avons détecté un signal de sélection positive. Cette étude a permis d'établir une liste de nouveaux variants candidats en pharmacogénétique qui pourraient avoir un impact conséquent en pratique clinique sur l'adaptation des doses au niveau individuel.

**Mots-clefs** : pharmacogénétique, sélection naturelle, différenciation des populations

CS18/#99

### Voies de réparation de l'ADN et risque de cancers des voies aérodigestives supérieures: analyse combinée de deux études d'association pangénomique dans les populations européennes

Marie-Claude Babron (1), Rémi Kazma (2), Valérie Gaborieau (3), James McKay (3), Paul Brennan (3), Alain Sarasin (4), Simone Benhamou (1)

1. U946, INSERM, Paris, France  
2. Department of Epidemiology and Biostatistics and Institute for Human Genetics, University of California San Francisco, San Francisco, USA  
3. Genetic Epidemiology, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France  
4. UMR8200, CNRS, Villejuif, France

**Auteur correspondant** : Benhamou Simone (simone.benhamou@inserm.fr)

L'importance des systèmes de réparation de l'ADN et leur rôle dans la prévention de la cancérogenèse sont bien établis. Ces systèmes sont responsables du maintien de l'intégrité génétique de nos cellules en étant capables de détecter et d'éliminer les lésions délétères induites sur la molécule d'ADN par des agents d'origine exogène, tel tabac. Ils pourraient ainsi contribuer à la prédisposition aux cancers des voies aérodigestives supérieures (cavité orale, pharynx, larynx et œsophage). Pour évaluer le rôle de ces voies métaboliques et des gènes associés, nous avons effectué une analyse combinant les données individuelles de 1954 cas et 3121 témoins inclus dans deux études européennes multicentriques du consortium international INHANCE (International Head and Neck Cancer Epidemiology) et pour lesquels des données démographiques et de consommation de tabac et d'alcool étaient disponibles. Treize voies impliquées dans la réparation de l'ADN, au sens large du terme, ont été sélectionnées à partir de la base de données Gene Ontology, représentant un ensemble de 212 gènes autosomiques. Une approche statistique novatrice a été utilisée pour tester simultanément des ensembles de SNPs appartenant aux différentes voies de réparation de l'ADN, puis appartenant aux gènes impliqués dans les voies significativement associées au risque de cancer. Pour chaque gène identifié, une régression logistique ascendante pas-à-pas a été utilisée pour déterminer la combinaison de SNPs expliquant l'association avec la maladie.

Nous avons mis en évidence une association significative entre la voie de réparation impliquant les polymérases et les cancers de la cavité buccale et du pharynx ( $p$ -corrige =  $6.97 \times 10^{-3}$ ). Cette association est entièrement expliquée par le SNP rs1494961 ( $p = 2.65 \times 10^{-4}$ ) qui consiste en une mutation faux-sens V306I localisée dans le deuxième exon du gène HELQ. Nous avons également mis en évidence un effet de la voie de régulation du cycle cellulaire sur le risque de cancer de l'œsophage ( $p$ -corrige =  $1.48 \times 10^{-2}$ ). Cette association est expliquée par trois SNP situés dans, ou à proximité, du gène CSNK1E: rs1534891 ( $p = 1.27 \times 10^{-4}$ ), rs7289981 ( $p = 3.37 \times 10^{-3}$ ), et rs13054361 ( $p = 4.09 \times 10^{-3}$ ).

Nos résultats confirment l'association entre le gène HELQ et les cancers liés au tabac mise en évidence dans des études antérieures et suggèrent un rôle spécifique de certaines voies de réparation de l'ADN dans la prédisposition aux cancers des voies aérodigestives supérieures.

**Mots-clefs** : Cancers des voies aérodigestives supérieures, Réparation de l'ADN, Variants génétiques



**CS19/#22****Le don anonyme de sperme augmente-t-il le risque d'unions entre apparentés, la consanguinité et l'incidence des maladies autosomiques récessives ?**

Jean-Louis Serre (1,2), Anne-Louise Leutenegger (3) Alain Bernheim (2,4), Marc Fellous (2,5), Jean-Pierre Siffroi (6)

1. UPRES EA 2493 Pathologie cellulaire et génétique, de la conception à la naissance, Université de Versailles - Saint Quentin en Yvelines UFR des sciences médicales, 78180 Montigny le Bretonneux, France1.

2. SFGH (Société française de génétique humaine)

3. INSERM U946- Fondation Jean Dausset-CEPH, INSERM U946, Paris, France

4. INSERM U985, Institut Gustave Roussy - SFGH, Villejuif, France

5. Université Paris Diderot, Paris, France

6. Université Pierre et Marie Curie (UPMC), Hôpital Trousseau, Paris, France

**Auteur correspondant :** Serre Jean-Louis (jean-louis.serre@uvsq.fr)

En France, l'IAD (insémination artificielle avec donneur) est anonyme et son statut relève du don d'un élément du corps humain au même titre que le don de sang ou d'organes. Elle est gérée par la fédération des CECOS (centre d'étude et de conservation du sperme) et définie comme un parcours de soins par le code de la santé publique ; elle conduit à 1 200 naissances sur les 820 000 annuelles.

L'anonymat du don a été levé dans plusieurs pays européens pour se conformer à la directive européenne conférant à l'enfant le droit de connaître ses origines biologiques. En France, la levée de l'anonymat est en débat et certains de ses partisans, médecins, sociologues ou psychologues ont récemment fait valoir deux arguments :

\* un premier argument, d'ordre culturel et éthique, voire d'ordre public, évoque le risque d'unions entre individus ignorant leur parenté du fait de l'anonymat des donneurs, en particulier d'unions « incestueuses » entre demi-frères-sœurs

\* un second argument, de santé publique, évoque la consanguinité résultant des unions entre apparentés consécutives à l'IAD anonyme, et l'augmentation consécutive du risque de maladie héréditaire (autosomique récessive).

Nous avons estimé ces risques et les avons comparé aux risques résultant de deux autres sources de consanguinité, d'une part les unions volontaires entre apparentés, le plus souvent entre cousins germains, d'autre part les unions entre descendants d'un même « donneur mâle anonyme » dans le contexte des exclusions de paternité (24 600 naissances annuelles sont issues d'un père biologique autre que leur père juridique.)

Il ressort de cette étude que le risque d'unions entre apparentés est quatre fois supérieur parmi ceux issus d'une exclusion de paternité que parmi ceux issus d'une IAD ; dans ce dernier cas, le risque d'unions entre demi-germains est de 1,2 sur 10 ans.

Parmi les 820 000 naissances annuelles, on peut estimer que 1256 consanguines sont issues de couples de cousins germains, 25 de couples ignorant leur parenté résultant d'une exclusion de paternité et 6 de couples ignorant leur parenté résultant d'une IAD.

Parmi les 820 000 naissances annuelles, on peut estimer que 672 nouveaux nés sont atteints d'une pathologie autosomique récessive par le seul hasard du brassage génétique, qu'un supplément de 34 cas consanguins résulte des mariages entre cousins germains et que les suppléments associés à l'exclusion de paternité et à l'IAD représentent respectivement 0,33 et 0,079 cas.

En conclusion, on peut considérer que l'anonymat du don de sperme dans le cadre de l'IAD a un effet totalement marginal sur le taux d'unions entre apparentés, la consanguinité (0,46% des naissances consanguines) et l'incidence des maladies autosomiques récessives (0,01% de celles-ci).

**Mots-clefs :** insémination artificielle, anonymat, consanguinité

**CS20/#393****Identification d'un nouveau gène contrôlant la variabilité inter-individuelle du potentiel de génération de thrombine par une étude d'association génome-entier.**

Ares Rocanin-Arjo (1), William Cohen (2), Laure Carcaillon (3), Corinne Frère (2), Noémie Saut (4), Luc Letenneur (5), Martine Alhenc-Gelas (6), Anne-Marie Dupuy (7), Marion Bertrand (8), Marie-Christine Alessi (4), Marine Germain (1), François Cambien (1), Philippe Amouyel (9), Pierre-Yves Scarabin (3), David-Alexandre Tregouet (1), Pierre-Emmanuel Morange (4)

1. INSERM UMR\_S 937, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

2. Laboratoire d'Hématologie, CHU Timone, Marseille, France

3. INSERM UMR\_S 1018, Université Paris 11, Villejuif, France

4. INSERM UMR\_S 1062, Université Aix-Marseille, Marseille, France

5. INSERM UMR\_S 897, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

6. Service d'Hématologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

7. UMR\_S 1061, Hôpital La Colombière, Montpellier, France

8. INSERM UMR\_S 708, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

9. INSERM UMR\_S 744, Institut Pasteur de Lille, Lille, France

**Auteur correspondant :** Tregouet David-Alexandre (david.tregouet@upmc.fr)

La thrombine est une enzyme clé de la cascade de la coagulation qui participe à de nombreux mécanismes physiopathologiques. Il est désormais possible de mesurer à partir du plasma d'un individu sa capacité à produire de la thrombine, ce qui est communément appelé le potentiel de génération de thrombine (PGT). Afin d'identifier des polymorphismes génétiques associés au PGT, nous avons réalisé une étude d'association génome-entier sur 1967 sujets indépendants pour lesquels trois biomarqueurs du PGT ont été mesurés, le potentiel endogène de thrombine (PET), la hauteur de pic et le temps de latence. Nous avons ensuite cherché à répliquer les principales associations observées dans deux autres échantillons de 1254 sujets indépendants. Nous avons ainsi identifié un polymorphisme fortement associé ( $p = 7.1 \cdot 10^{-15}$  dans l'ensemble des échantillons étudiés) à la variabilité des taux plasmatiques du temps de latence, ce biomarqueur reflétant le processus d'initiation de la production de thrombine. Le polymorphisme identifié est situé dans un gène non connu à ce jour pour participer à la cascade de la coagulation, et nous montrons par des études *in vitro* que la supplémentation en protéine codée par ce gène dans le plasma d'individus est associée, de manière dose-dépendante, à des perturbations de la production de thrombine. Ces résultats ouvrent la voie vers la connaissance de nouveaux mécanismes physiologiques liés au contrôle de la génération de thrombine et laissent entrevoir de nouvelles perspectives thérapeutiques dans le domaine des pathologies thrombotiques.

**Mots-clefs :** Génération de Thrombine, Etude d'Association Génome Entier ("GWAS"), Coagulation

**CS21/#496****Altérations génétiques du complexe postsynaptique lié au récepteur NMDA associées à l'autisme**

Servane Ailrol (1), Sylviane Marouillat (1), Agathe Paubel (1,2), Patrick Vourc'h (1,3), Christian Andres (1,3), Catherine Barthélémy (1,4), Dominique Campion (5), Christine Foulon (6,7), Nathalie Juteau (6,7), Martine Raynaud (1,2), Annick Toutain (1,2), Eric Lemonnier (8), Philippe Goupille (6,7), Frédérique Bonnet-Brilhault (1,4), Frédéric Laumonier (1,2)

1. UMR "Imagerie et Cerveau", Inserm U930, Université François-Rabelais, Tours, France

2. Service de Génétique, CHRU, Tours, France

3. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHRU, Tours, France
4. Centre Universitaire d'explorations fonctionnelles et de neurophysiologie en pédopsychiatrie, CHRU, Tours, France
5. INSERM UMR1079, Université de Rouen, Rouen, France
6. Cellule "Promotion et Contrôle Qualité", DRCi, CHRU, Tours, France
7. CIC Inserm 0202, CHRU, Tours, France
8. Pôle Organe des sens et Laboratoire de neurobiologie EA 4685, CHRU, Brest, France

**Auteur correspondant :** LAUMONNIER Frédéric (frederic.laumonier@univ-tours.fr)

L'autisme est un trouble neuro-développemental ayant un impact majeur en santé publique, et dont la prévalence est actuellement établie à 1 enfant sur 100. De nombreuses études épidémiologiques ont montré que l'autisme est très hétérogène sur les aspects cliniques et génétiques. À ce jour, plus de 100 gènes ont été impliqués de manière formelle. L'identification de ces gènes a permis de mettre de évidence une contribution significative de mutations de novo, mais aussi l'implication de voies physiopathologiques cibles, en particulier la densité post-synaptique (PSD).

Nous avons effectué une étude clinique et génétique sur 100 famille françaises incluant au moins un sujet autiste (projet « Neurophysiological, Molecular and Developmental Analysis of the Glutamate Synapse in Autism – ClinicalTrials.gov NCT01770548). Notre projet a consisté à évaluer d'une part la contribution de CNV dans l'autisme chez ces patients, et d'autre part, la présence de mutations affectant le protéome synaptique lié au récepteur NMDA (NRC). Pour chaque famille nous avons réalisé en parallèle la recherche de CNV en utilisant des puces à ADN à haute résolution (1M aCGH, Agilent), et une analyse de 216 gènes incluant ceux du complexe NRC (185) par l'approche de capture d'exons ciblée (SureSelect, Agilent) et de séquençage à haut-débit.

Les premiers résultats de notre étude ont permis de caractériser des altérations génétiques candidates et probablement pathogènes chez au moins 10% des sujets de cette cohorte. Ils soulignent également que le complexe NRC (qui appartient à la PSD) est ciblé aussi bien par des mutations que par des CNV hérités ou de novo, absents des bases de données de contrôles (DGV, EVS), et impliquant des gènes codant des récepteurs (NLGN4X, GRM5), des protéines cytosoliques (UPF3B), nucléaires (MACROD2) et synaptique (NXP3).

Ces résultats permettent d'ores et déjà de souligner le rôle fondamental de ce réseau multi-protéique dans les processus de communication neuronale et d'apprentissage et de son impact physiopathologique dans l'autisme.

**Mots-clefs :** autisme, complexe synaptique lié au récepteur NMDA, gènes candidats

## CS22/#788

### Tests multiples dans les études d'association pangénomiques : une revue systématique des pratiques actuelles

Anne-Sophie Jannot (1), Georg Ehret (2), Thomas Perneger (1)

1. Service d'épidémiologie clinique, Hôpitaux universitaires de Genève, Genève, Suisse
2. Service de cardiologie, Hôpitaux universitaires de Genève, Genève, Suisse

**Auteur correspondant :** Jannot Anne-Sophie (jannot\_as@hotmail.com)

#### Contexte

Les études d'association pangénomiques (Genome-Wide Association Studies ou GWASs) testent l'association entre une maladie ou un phénotype quantitatif et plusieurs centaines de milliers de polymorphismes, les plus couramment utilisés étant des SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms). Les polymorphismes pour lesquels le degré de signification (valeur p) est inférieur à une

certaine valeur ou seuil de signification pangénomique sont considérés comme associés à la maladie ou au phénotype étudié. La plupart de ces études comportent une étape de réplication et un autre seuil pour la valeur p est fixé pour choisir les polymorphismes inclus dans l'étape de réplication. Le choix de ces seuils, le seuil de signification ou le seuil utilisé pour inclure les SNP dans l'étape de réplication, doit prendre en compte la multiplicité des tests effectués et nécessite de trouver le bon compromis entre la puissance et le taux de faux positifs. La pratique actuelle concernant le choix de ces seuils n'est pas connue. Ici, nous avons effectué une analyse systématique de tous les seuils publiés au cours de deux périodes récentes afin d'évaluer si un consensus se dégageait concernant leur choix.

#### Matériels et méthodes

Nous avons identifié toutes les GWAS publiées au cours du premier semestre de 2011 et du troisième trimestre de 2012 et extrait le seuil de signification pangénomique et le seuil choisi pour inclure un SNP dans l'étape de réplication le cas échéant.

#### Résultats

Nous avons identifié 167 GWASs publiées au cours du premier semestre 2011 et 105 GWASs publiées au cours du troisième trimestre 2012. La proportion d'études ayant choisi  $5 \times 10^{-8}$  comme seuil de signification a sensiblement augmenté entre ces deux périodes (40% contre 67%), tandis que la proportion d'étude donnant une justification pour le choix de ce seuil a significativement diminué. 71% des GWASs publiées étaient suivies par une étape de réplication. La distribution des seuils pour inclure un SNP dans l'étape de réplication était très similaire entre ces deux périodes avec une médiane à 10-5 et une variance importante (IQR : [ 10-6 ; 10-4 ]). Très peu de ces études (10%) justifiaient le choix de ce seuil.

#### Conclusion

Alors que  $5 \times 10^{-8}$  émerge comme le seuil de signification pangénomique consensuel, il n'existe pas de consensus pour le choix du seuil utilisé pour inclure un SNP dans l'étape de réplication et les critères utilisés pour ce choix ne sont pas rapportés dans 90% des GWASs.

**Mots-clefs :** études d'association pangénomiques, revue systématique, Tests multiples

## CS23/#503

### A la recherche d'une structure génétique fine dans les populations de l'Ouest

Matilde Karakachoff (1), Nicolas Duforet-Frebourg (2), Floriane Simonet (1), Solena Le Scouarnec (1), Nadine Pellen (3), Simon Lecointe (1), Eric Charpentier (1), Françoise Gros (1), Stéphane Cauchi (4), Philippe Froguel (5), Nane Copin (6), Thierry Le Tourneau (1), Vincent Probst (1), Hervé Le Marec (1), Sabrina Molinaro (7), Beverley Balkau (8), Richard Redon (1), Jean-Jacques Schott (1), Michael GB Blum (2), Christian Dina (1)

1. Institut du thorax, INSERM UMR 1087 / CNRS UMR 6291, Nantes, France
2. Laboratoire TIMC-IMAG, CNRS UMR 5525, Grenoble, France
3. Université de Bretagne Occidentale, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
4. Institut de Biologie de Lille, CNRS UMR8199, Lille, France
5. Department of Genomics of Common Disease, Imperial College, London, Royaume-Uni
6. Institut inter-Regional pour la Santé, IRSA, La Riche, France
7. Institute of Clinical Physiology, National Research Council, Pise, Italie
8. CESP Center for Research in Epidemiology and Population Health, INSERM UMR 1018, Villejuif, France

**Auteur correspondant :** Karakachoff Matilde (matilde.karakachoff@univ-nantes.fr)

L'hypothèse qui a conduit au développement des études d'association sur génome entier était que des variations génétiques fréquentes pourraient contribuer majoritairement aux maladies communes. Cependant, l'application de ces études a surtout permis d'identifier des marqueurs de risque ayant un effet faible, mais

rarement de véritables prédispositions génétiques. Cette observation empirique a conduit la communauté scientifique à reconsidérer l'importance des variants rares.

L'extraordinaire développement des outils de biologie moléculaire et de génétique, y compris l'avènement du séquençage du génome entier, nous donne maintenant la possibilité d'évaluer le rôle des variants génétiques qui étaient trop rares pour être analysés par les études d'association classiques.

Ces allèles rares - apparus récemment au sein des populations - n'ont pas encore été soumis aux effets de la sélection naturelle, et ont donc potentiellement un effet délétère fort. De plus, ils sont susceptibles d'être focalisés géographiquement parmi les populations pour lesquelles les taux de migration seraient restés limités, comme par exemple les populations rurales françaises du 18<sup>e</sup> et 19<sup>e</sup> siècle. Si ces allèles rares augmentent fortement le risque de maladie, une augmentation locale de prévalence de la maladie est attendue, ainsi qu'une augmentation de la robustesse de la relation variant-phénotype.

Notre travail vise à tester si l'histoire démographique de certaines régions de l'Ouest de la France a conduit à une structure génétique particulière des populations sédentaires de ces régions.

Nous avons analysé un échantillon de 1.684 personnes de l'Ouest de la France, à partir de deux cohortes. La première cohorte, D.E.S.I.R., est une étude prospective pour l'analyse du syndrome de résistance à l'insuline. Le deuxième échantillon, l'étude CavaGen, est composé de patients atteints d'un rétrécissement aortique calcifiée, recrutés par les hôpitaux de Nantes, Angers et Rennes. Les génotypes, à l'échelle du génome entier, ont été analysés en fonction du lieu de naissance des individus.

Les résultats de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) montrent une corrélation entre génétique et géographie. L'analyse de brassage génétique ('admixture') montre aussi des proportions de mixité distinctes pour les personnes originaires de Bretagne et de Vendée.

Nous avons constaté qu'une structure fine des populations se dessine au sein des régions de l'Ouest de la France. Ceci démontre qu'une stratification de population peut être observée même à un niveau local dans des populations généralement considérées comme ouvertes et panmictiques. Cette observation laisse penser que des allèles rares sont susceptibles de se regrouper géographiquement, même dans ce type de population. Par conséquent, les études d'association visant à l'identification des variants rares pourraient bénéficier d'une stratégie axée sur l'analyse de patients dans petites unités géographiques.

**Mots-clefs** : structure génétique, variants rares, France

## CS24/#607

### Association pan-génomique de variants génétiques codants et fréquents avec la dysplasie fibromusculaire artérielle

Romuald KIANDO (1), Pierre-François PLOUIN (2), Maria-Cristina BARLASSINA (3), Daniele CUSI (3), GALAN GALAN (4), Mark LATHROP (5), Xavier JEUNEMAITRE (6), Nabila BOUATIA-NAJI (1)

1. INSERM UMR 970 PARIS Centre de recherche Cardiovasculaire (PARCC), Université Paris-Descartes PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Service d'hypertension HEGP, Université Paris-Descartes, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. Filarete Foundation, Genomic and Bioinformatics Unit, Dept. of Medicine, Surgery and Dentistry, University of Milano. Graduate School of Nephrology, University of Milano, Division of Nephrology, San Paolo Hospital, Milan, Italie
4. Unité mixte de recherche 557 Inserm, Inra/Cnam/Paris13, Paris, France
5. Génome Québec Innovation Centre, McGill University, Québec, Canada
6. INSERM UMR970 PARIS Centre de recherche Cardiovasculaire (PARCC), AP-HP Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Université Paris-Descartes PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Auteur correspondant** : KIANDO Romuald (romuald.kiando@inserm.fr)

**Introduction.** La dysplasie fibromusculaire artérielle (DFM) est une maladie non inflammatoire, et non athéromateuse caractérisée par des sténoses des artères rénales (70%) et des carotides (30%). La prévalence de la DFM est estimée à 4/1000 en population générale, la maladie touche surtout les femmes (80%) âgées de moins de 50 ans. Même si le caractère héréditaire de la DFM a été démontré, nos études génétiques réalisées jusqu'à présent par des approches «gènes candidats» n'ont pu aboutir. L'objectif de ce travail est d'identifier des variants génétiques fréquents codants impliqués dans l'étiologie de la DFM par une étude d'association pan-génomique.

**Populations et méthodes.** Nous avons étudié 309 cas et 700 témoins (SU.VI.MAX). Les génotypes ont été générés par l'exome chip (EC), une puce à façon offrant une couverture très élevée et ciblée des variants exoniques. Nous avons exclu les individus avec un taux de génotypage (TG)

**Résultats et discussion**

Nous avons analysé un total de 25567 variants fréquents chez 259 cas et 692 témoins. Aucun variant n'a montré une association significative au seuil de la correction de Bonferroni pour tests multiples (P)

**Conclusion.** Ce travail est la première étude d'association pan-génomique des variants exoniques fréquents de la DFM. Nos résultats d'association préliminaires sont prometteurs et le génotypage des 28 SNP les plus associés est en cours de réalisation dans un échantillon indépendant de réplication de 350 cas et 500 témoins. L'EC contient également des variants rares polymorphes dans nos populations (MAF

**Mots-clefs** : Dysplasie fibromusculaire artérielle, Association pan-génomique de variants codants, Intégrité de la matrice extracellulaire

## Développement et foetopathologie

### CS25/#178

### Malformations du développement cortical et microcéphalie: Identification de nouveaux gènes mutés impliqués dans la dynamique des microtubules

Karine POIRIER (1), Nicolas Lebrun (1), Loic BROIX (1), Guoling Tian (2), Yoann Saillour (1), Cécile Boscheron (3), Elena Parrini (4), Stéphanie Valence (1), Didier Lacombe (5), David Geneviève (6), Elena Fontana (7), Francesca Darra (8), Claude Cancès (9), Magalie Barth (10), Dominique Bonneau (10), Bernardo Dalla Bernadina (11), Sylvie N'Guyen (12), Cyril Gitiaux (1), Philippe Parent (13), Vincent des Portes (14), Jean Michel Pedespan (15), Victoire Legrez (16), Patrick Nitschke (17), Diana Zelenika (18), Annie Andrieux (3), Fiona Francis (19), Renzo Guerrini (4), Nicholas J. Cowan (20), Nadia Bahi-Buisson (1), Jamel Chelly (1)

1. Institut Cochin, Université Paris-Descartes, CNRS (UMR 8104), INSERM U1016, Paris, France
2. Department of Biochemistry and Molecular Pharmacology, New York University Medical Center., New York, USA
3. Institut des Neurosciences, Inserm, U836, Université Joseph Fourier, Grenoble, France
4. Pediatric Neurology Unit and Laboratories, Children's Hospital A. Meyer-University of Florence, Florence, Italie
5. Department of Medical Genetics, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
6. Department of Medical Genetics, Université Montpellier 1, Montpellier, France
7. UOC di Neuropsichiatria Infantile, Azienda Ospedaliera Univesritaria di Verona, Verone, Italie
8. UOC di Neuropsichiatria Infantile, Azienda Ospedaliera Univesritaria di Verona, Verona, Italie
9. Département de Pédiatrie, CHU de Toulouse, Toulouse, France
10. INSERM: U694, Université d'Angers, Angers, France
11. UOC di Neuropsichiatria Infantile, Azienda Ospedaliera Univesritaria di Verona, Verone, Italie
12. Clinique Médicale Pédiatrique, CHU de Nantes, Nantes, France



13. Service de Pédiatrie et Génétique Médicale, Hôpital de Brest, Brest, France
14. Centre de référence déficiences intellectuelles de causes rares, CHU de Lyon, Lyon, France
15. Service de Pédiatrie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
16. Service Neuropédiatrie, CHU Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
17. Bioinformatics platform, Université Paris Descartes, Paris, France
18. Centre National de Génotypage, CNG, Evry, France
19. Institut du Fer à Moulin, INSERM, Paris, France
20. Department of Biochemistry and Molecular Pharmacology, New York University Medical Center, New York, USA

**Auteur correspondant :** POIRIER Karine (Karine.poirier@inserm.fr)

Les causes génétiques des malformations du développement cortical (MDC) telles que les lissencéphalies ou les polymicrogyries restent à ce jour très peu connues. Nous reportons ici l'identification de mutations faux sens pathogènes dans les gènes TUBG1, DYNC1H1 et KIF2A, ainsi qu'un cas de mutation à l'état mosaïque germinale dans le gène KIF5C. La fréquence élevée des mutations du gène DYNC1H1 suggère que celui-ci pourrait être impliqué dans de nombreuses formes de MDC inexplicables. Les analyses fonctionnelles ont démontré que les mutations de KIF5C, KIF2A et DYNC1H1 affectent drastiquement la capacité des protéines à hydrolyser l'ATP, à se replier ou à se lier aux microtubules. De plus, la suppression *in vivo* chez la souris de *Tubg1* entraîne l'apparition d'anomalies de la migration neuronale radiaire. L'expression des différents mutants TUBG1 chez *S. cerevisiae* provoque quant à elle une perturbation du comportement des microtubules lors du cycle cellulaire. L'ensemble de ces données renforce l'importance des protéines liées aux microtubules dans le développement cortical et suggère fortement que les processus mitotiques et post-mitotiques dépendants des microtubules seraient des acteurs majeurs de la pathogenèse des MDC.

**Mots-clefs :** génétique humaine, malformations corticales, cytosquelette

## CS26/#116

### Spectre des mutations de l'endothéline 1 dans le syndrome auriculocondyalaire et les oreilles en point d'interrogation isolées

- Christopher Gordon (1), Florence Petit (2), Peter Kroisel (3), Linda Jakobsen (4), Roseli Maria Zechi-Ceide (5), Myriam Oufadem (1), Christine Bole-Feysot (6), Patrick Nitschké (7), Arnold Munnich (1), Stanislas Lyonnet (1), Muriel Holder-Espinasse (8), Jeanne Amiel (1)
1. INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
  2. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
  3. Institute of Human Genetics, Medical University of Graz, Graz, Autriche
  4. Department of Plastic Surgery, Copenhagen University Hospital, Herlev, Danemark
  5. Department of Clinical Genetics, University of São Paulo, Bauru, Brésil
  6. Plateforme Génomique, Institut Imagine, Paris, France
  7. Plateforme Bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France
  8. Department of Clinical Genetics, Guy's Hospital, London, Royaume-Uni

**Auteur correspondant :** GORDON Chris (ctgordon1405@hotmail.com)

Le syndrome auriculocondyalaire (SAC) est une pathologie cranio-faciale rare associant une hypoplasie mandibulaire et des oreilles en point d'interrogation (OPI) par défaut de fusion entre le lobe et l'hélix. L'OPI peut être isolée et se transmet selon un mode autosomique dominant. L'étude des modèles souris et poisson zèbre a montré le rôle essentiel de l'endothéline 1 (EDN1) dans la signalisation par le récepteur de l'endothéline de type A (EDNRA) dans le développement du bourgeon mandibulaire du premier arc branchial. En effet, l'inactivation ciblée d'*Edn1*, *Ednra*, *Ece1*, *Dlx5* et *Dlx6* ou *Hand2* est responsable d'une transformation homéotique de la mandibule en maxillaire.

Récemment, les gènes codant la phospholipase C, beta 4 (PLCB4) et la guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha inhibiting

activity polypeptide 3 (GNAI3) ont été impliqués dans le SAC. Les deux gènes codent des protéines potentiellement impliquées dans la signalisation intra cellulaire d'EDNRA. Le séquençage d'exome puis le séquençage ciblé chez des patients atteints de SAC ou OPI et sans mutation de *PLCB4* et *GNAI3* a identifié des mutations d'*EDN1*. Dans deux familles avec un ou plusieurs germains atteints de SAC et nés de parents apparentés, une mutation homozygote a été identifiée. Il s'agit dans un cas d'une mutation faux-sens dans le site de clivage par la furine de la preproendothéline et dans l'autre d'une mutation faux-sens à proximité du site de clivage de la big endothéline par son enzyme de conversion. Une mutation hétérozygote d'*EDN1* a été identifiée dans deux familles présentant une OPI ; un stop prématuré dans un cas et une mutation faux-sens touchant un résidu hautement conservé de l'*EDN1* mature dans l'autre cas.

La nature des mutations suggère des activités résiduelles variables avec un phénotype OPI pour des mutations hétérozygotes perte de fonction et un phénotype SAC pour des mutations hypomorphes avec activité résiduelle inférieure à 50% chez les homozygotes.

En conclusion, nous rapportons les premières mutations d'*EDN1* chez l'homme et nous suggérons que SAC et OPI sont un continuum phénotypique résultant d'une altération de la voie de signalisation EDN1-EDNRA.

**Mots-clefs :** endothéline, auriculocondyalaire, craniofaciale

## CS27/#301

### Défaut de glycosylation d'une nouvelle structure O-mannosylée dans l'alpha-Dystroglycanopathie fœtale ou lissencephalie de type II.

Céline Bouchet-Seraphin (1), Malika Chelbi-Viallon (1), Sandrine Vuillaumier-Barrot (1), Louise Devisme (2), Marie Gonzales (3), Féréchté Razavi (4), Nathalie Seta (5)

1. Génétique, APHP, Hôpital Bichat, Paris, France
2. Centre de Biologie Pathologie, CHU-Lille, Lille, France
3. Génétique et Embryologie Médicale, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Histologie-Embryologie-Cytogénétique, APHP, Hôpital Necker, Paris, France
5. Biochimie, APHP, Hôpital Bichat, Paris, France

**Auteur correspondant :** Bouchet Céline (celine.bouchet@bch.aphp.fr)

Contexte : Jusqu'à récemment les connaissances sur la glycosylation de l'alpha-dystroglycane (alpha-DG) reposaient sur l'existence d'un seul type de chaîne O-mannosylée et l'implication de 6 gènes dans son fonctionnement. Les glycosyltransferases POMT1/POMT2 et POMGNT1 et les protéines codées par les gènes *FKTN*, *FKRP* et *LARGE* dont les rôles exacts restent méconnus.

Les découvertes récentes, suite au développement des techniques d'exome, d'autres gènes liés à ces pathologies, ont conduit à proposer d'autres structures O-mannosylées impliquant notamment de nouvelles glycosyltransferases (Yoshida-Moriguchi et al. 2013). Matériel et Méthodes : Nous avons étudié les gènes des alpha-DGpathies récemment identifiés sur l'ensemble de la cohorte SOFFOET LIS II (lissencéphalies de type II fœtales (cobblestone/pavimenteuse) - Devisme et al. 2012, n=121). Les gènes *GTDC2*, *B3GALNT2*, *SGK196* codent pour la glycosylation du core M3. Les fonctions des protéines codées par les gènes *TMEM5*, *ISPD* et *B3GNT1* ne sont pas clairement définies. Ces études moléculaires complémentaires nous ont permis de déterminer la répartition de l'ensemble des gènes des alpha-DGpathies suivant le type de chaîne O-mannosylée synthétisée : core M3 (Man (beta1,4) GlcNAc (beta1,3) GalNAc) versus M1 (Man (beta1,2) GlcNAc (beta1,4) Gal) ;

Résultats :

Les gènes GTDC2 et B3GALNT2 sont impliqués chacun dans 4 cas (3,2%), et SGK196 dans 5 cas (4%), soit une implication de cette nouvelle glycosylation de l'alpha-DG, core M3, dans près de 10% des cas. Lors de l'étude neuro-foetopathologique, l'ensemble de ces fœtus avait été classé en forme sévère LIS II-A. Aucun cas n'a été identifié muté sur le gène B3GNT1.

Ainsi en reprenant l'ensemble des cas de la cohorte SOFFOET LIS II, les gènes impliqués dans la structure M1 sont en cause dans 66 cas (54%) : POMT1 (26%), POMT2 (11%) et POMGNT1 (11%). Les gènes ISPD et TME5 ont été identifiés respectivement à 8 (6,5%) et 12 (10%) reprises. Les gènes FKTN, FKRP et LARGE restent minoritaires. Finalement, le diagnostic moléculaire est aujourd'hui posé dans 82% des cas de notre cohorte SOFFOET LIS II.

Conclusion:

Les techniques d'exome ont conduit au cours de ces 2 dernières années au doublement du nombre de gènes impliqués dans les alpha-DGpathies et nous permettent à ce jour avec 12 gènes étudiés en routine de poser le diagnostic moléculaire dans plus de 80% des cas de LIS II fœtale. D'autre part, ces nouveaux gènes ont permis de mettre en évidence une nouvelle structure de chaîne O-mannosylée d'intérêt portée par l'alpha-DG.

**Mots-clés :** Alpha-dystroglycanopathie, Lissencéphalie type II, O-mannosylation

## CS28/#43

### Diagnostic anténatal des formes sévères de chondrodysplasie ponctuée liée à l'X chez 7 nouveaux fœtus de sexe féminin.

Mathilde Lefebvre (1,2), Fabienne Dufernez (3), Julien Thevenon (1), Julie Desir (4), Caroline Daelemans (5), Frédérique Jossic (6), Sébastien Schmitt (6), Raphael Mangione (7), Fanny Pelluard (8), Catherine Vincent-Delorme (9), Jean-Marc Labaune (10), Nicole Bigi (11), Salima El Chehadeh (1,12), Nicole Laurent (2), Laurence Faivre (1,12), Christel Thauvin-Robinet (1,12)

1. Equipe EA 4271 GAD Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
2. Service d'Anatomo-Pathologie, Faculté de Médecine de Dijon, France
3. APHP, Hôpital Saint-Antoine, Biochimie B, Laboratoire de Référence pour le Diagnostic Génétique des Maladies Rares, Paris, France
4. Center for Medical Genetics, Hospital Erasme, ULB, Brussels, Belgium
5. Institut de Recherches Interdisciplinaires en Biologie Humaine et Moléculaire, Hôpital Erasme, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium
6. CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.
7. Department of Gynecology, Hôpital Pellegrin; Bordeaux, France
8. Service de pathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
9. Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, France
10. Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France
11. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
12. FHU-TRANSLAD, Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France

**Auteur correspondant :** Lefebvre Mathilde (1mlefebvre@free.fr)

Le syndrome de Conradi-Hünemann-Happle (CDPX2) est une forme rare de dysplasie squelettique de transmission dominante liée à l'X. Il est habituellement létal chez les garçons hétérozygotes et d'expressivité très variable chez les femmes. Les mutations causales sont identifiées dans le gène EBP, codant pour la protéine Emopamil-binding impliquée dans la synthèse du cholestérol, sans corrélation apparente entre le type de mutation et la sévérité du phénotype. Dans la littérature, seulement 6 cas de formes sévères à expression anténatale ont été rapportés chez des fœtus de sexe féminin.

Afin de décrire le phénotype des formes sévères de sexe féminin, nous avons recruté sur une période de 4 ans les 7 fœtus féminins Français avec une présentation anténatale sévère et une mutation du gène EBP. L'âge moyen de découverte des signes d'appel échographique était de 24 SA, avec principalement des anomalies

osseuses, incluant des os longs courts (6/7), une incurvation des os longs (4/7), des épiphyses ponctuées (4/7) et un aspect irrégulier du rachis (4/7). Dans 5/7 cas, une interruption médicale de grossesse a été réalisée. Tous les fœtus présentaient une ichtyose et les radiographies montraient systématiquement des épiphyses ponctuées, fréquemment associées à un raccourcissement asymétrique et à une incurvation des os longs. Différents types de mutations du gène EBP étaient identifiées, incluant 3 mutations tronquantes, 1 mutation d'épissage et 3 mutations faux-sens. Toutes étaient survenues de novo, à l'exception d'un cas familial de transmission dominante et d'un cas de mosaïque germinale. L'étude de l'inactivation de sexe chromosome X au sein des tissus fœtaux a mis en évidence des différences d'inactivation. L'étude du cas familial montrait un biais d'inactivation chez la mère présentant un phénotype modéré, et une absence de biais chez la fœtus ayant un phénotype sévère.

En conclusion, la découverte échographique d'un raccourcissement des os longs associé à une incurvation et des épiphyses ponctuées doit faire évoquer le syndrome de Conradi-Hünemann-Happle, même chez les fœtus de sexe féminin et en l'absence d'antécédent familial. En effet, ces cas sévères sont principalement secondaires à une mutation de novo, ce qui est important pour le conseil génétique. Les premiers résultats des études de l'inactivation de l'X font suspecter l'implication d'un biais d'inactivation dans l'importante variabilité phénotypique de la CDPX2 chez la fille. Des études complémentaires d'inactivation allèle spécifique sur cDNA viendront confirmer cette hypothèse.

**Mots-clés :** chondrodysplasie ponctuée liée à l'X, Diagnostic anténatal, fœtus de sexe féminin

## CS29/#412

### Etudes moléculaires dans une cohorte de fœtus interrompus présentant une fragilité osseuse

Anne-Sophie Lebre (1), Geneviève Baujat (1), Etienne Mornet (2), Karen Lambot (3), Pascale Sonigo (3), Sofia Dos Santos (1), Coralie Haudry (1), Carine Abel (4), Bétina Bessières (1), Jean-Pierre Bernard (5), Nicole Bigi (6), Patricia Blanchet (7), Anne-Lise Delezoide (8), Anne Dieux (9), Dominique Gaillard (10), Fabienne Giuliano (11), Jelena Martinovic (12), Anne Elodie Millischer (5), Philippe Roth (5), Joelle Roume (13), Laurent Salomon (5), Géraldine Viot (14), Jean-Paul Bonnefont (1), Arnold Munnich (1), Martine Le Merrer (1), Valérie Cormier-Daire (1)

1. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP, Paris, France
2. Service de Génétique, Centre Hospitalier de Versailles, Versailles, France
3. Service de Radiologie, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP, Paris, France
4. Service de Génétique médicale, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France
5. Service de Gynécologie, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP, Paris, France
6. Service de Foetopathologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
7. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
8. Service de Foetopathologie, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France
9. Service de Génétique Clinique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
10. Service de Génétique, Hôpital Maison Blanche, Reims, France
11. Service de Génétique clinique, Hôpital Archet 2, Nice, France
12. Service de Foetopathologie, Hôpital Antoine Béchère, AP-HP, Clamart, France
13. Service de Foetopathologie, Hôpital de Poissy, Poissy, France
14. Service de Génétique, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France

**Auteur correspondant :** Lebre Anne-Sophie (anne-sophie.lebre@nck.aphp.fr)

L'ostéogenèse imparfaite (OI) est une affection génétique caractérisée par une fragilité osseuse, des déformations des membres et un retard statural. Actuellement, 15 gènes ont été décrits comme impliqués dans les différentes formes d'OI. La majorité des patients présente une forme autosomique dominante



d'OI avec mutation dans les gènes COL1A1 ou A2. Des mutations dans les gènes CRTAP, LEPRE1, PPIB, SERPINH1, SERPINF1, FKBP10, SP7, BMP1, TMEM38B, WNT1, TAPT1 et CREB3L ont été récemment décrites dans des formes autosomiques récessives. Enfin, une mutation récurrente dans le gène IFITM5 a été identifiée dans la forme avec calcs hypertrophiques.

Le diagnostic d'OI repose sur un faisceau d'arguments cliniques et radiologiques. Il peut être évoqué en anténatal, à tout moment de la grossesse, devant des incurvations des os longs, des os longs courts, une malléabilité du crâne sous la sonde, une transparence osseuse voire des fractures et des os wormiens. Plusieurs diagnostics différentiels peuvent être discutés dont l'hypophosphatasie (HPP).

Parmi une cohorte de 104 fœtus interrompus présentant une fragilité osseuse et adressés (pour les fœtus OI) au centre de référence des maladies osseuses constitutionnelles et explorés sur le plan moléculaire à Necker et au CH de Versailles, le premier diagnostic évoqué a été une OI dans 65 cas et une HPP dans 39 cas. Sur le plan moléculaire, une mutation dans les gènes d'OI a été identifiée chez 49/65 (75%) des fœtus suspects d'OI dont 71% dans les gènes COL1A1 ou A2. 16/65 (25%) fœtus restent sans cause moléculaire identifiée, mais tous les gènes connus d'OI n'ont pas été étudiés à ce jour. L'étude du gène ALPL chez les 39 fœtus suspects d'HPP a permis de confirmer le diagnostic chez 12/39 (31%) d'entre eux. La proximité clinique en anténatal entre OI et HPP a été soulignée depuis longtemps et sera discutée, ainsi que les éléments permettant l'orientation diagnostique. Ainsi, parmi les 27 fœtus sans mutations dans le gène ALPL, deux fœtus ont été testés pour les gènes d'OI et une mutation a été identifiée dans les gènes COL1A1 ou A2 chez ces deux fœtus. Au total, des mutations ont été identifiées chez 61/104 (59%) des fœtus interrompus avec fragilité osseuse. Une étude rétrospective des dossiers foetopathologiques sera présentée.

Devant le nombre croissant de gènes impliqués dans l'OI et plus généralement la fragilité osseuse, deux stratégies de séquençage moyen débit (Raindance, Agilent) sont actuellement testées dans le cadre d'un projet de recherche translationnelle, ceci pour les fœtus sans mutation(s) identifiée(s). Une surveillance échographique à la recherche d'une récurrence est utile mais le diagnostic moléculaire sur biopsie de trophoblaste peut permettre un diagnostic précoce à 12SA. L'identification de mutations permet de proposer un diagnostic de certitude, un conseil génétique ainsi qu'un diagnostic moléculaire prénatal (DPN) ou préimplantatoire (DPI) pour les formes les plus sévères.

**Mots-clés** : fragilité osseuse, ostéogenèse imparfaite, séquençage moyen débit

## CS30/#351

### Le phénotype fœtal du syndrome de Simpson-Golabi-Behmel : à propos de 8 cas.

Clémence Fleury (1), Elisabeth Alanio (2), Louise Devisme (3), Nicole Laurent (4), Laurence Loeuillet (5), Isabelle Pommepuy (6), Véronique Fermeaux (6), Edouard Cottereau (7), Florence Petit (8), Marie Pierre Moizard (9), Brigitte Gilbert-Dussardier (10), Annick Toutain (9), Dominique Gaillard (1)

1. Service de génétique, CHU de Reims-Hôpital Maison Blanche, Reims, France
2. Laboratoire d'histologie, embryologie et cytologie, CHU de Reims-Hôpital Maison Blanche, Reims, France
3. Service d'Anatomopathologie, CHRU de Lille, Lille, France
4. Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHU de Dijon, Dijon, France
5. Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHU de Rennes, Rennes, France
6. Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHU de Limoges, Limoges, France
7. Service de Génétique, CHU de Tours- Hôpital Bretonneau, Tours, France
8. Service de génétique clinique, CHRU de Lille-Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
9. Service de génétique, CHU de Tours- Hôpital Bretonneau, Tours, France
10. Service de génétique médicale, CHU de Poitiers, Poitiers, France

**Auteur correspondant** : Fleury Clémence (fleury.clemence@gmail.com)

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS) est un syndrome génétique rare lié à l'X, associant une croissance excessive, une dysmorphie faciale et des malformations, en rapport avec le gène GPC3 codant pour le glypican 3. Ce syndrome, connu chez l'enfant, ne comporte pas de description fœtale détaillée. Le but de ce travail a été de collecter les observations de SGBS fœtal avec les données anté-natales, foetopathologiques et génétiques, via les membres de la SOFFOET. L'étude porte sur 5 familles, soit 8 observations de fœtus de sexe masculin, âgés de 18 à 32 semaines d'aménorrhée, avec les données échographiques et 6 avaient bénéficié d'un examen morphologique (2 récidives sans autopsie). Le diagnostic génétique a été fait par ACPA ou PCR pour 2 familles présentant une délétion emportant au moins GPC3, et par séquençage pour les 3 autres familles porteuses d'une mutation de l'exon 3 de GPC3. L'étude de ces cas a permis de constater une augmentation de la clarté nucale au premier trimestre. La macrosomie harmonieuse (6/6) détectée qu'au deuxième trimestre, s'accroissait avec l'âge. La dysmorphie faciale était constante avec une macrocrânie et un excès de peau frontale et cervicale, une glabelle large (6/6), des lèvres fines, et une macroglossie (4/6). La viscéromégalie précédait la macrosomie et concernait le foie (6/6), les reins (3/6) et les surrénales (2/6). Les malformations les plus fréquentes furent la hernie diaphragmatique (4/6), les pyelectasies et les dilatations urétérales (4/6), la néphroblastomatosose rénale (3/6), et l'hyperplasie Langheransienne (2/6). Ces fœtus ne présentaient ni polydactylie, ni omphalocèle ou cytomégalie surrénalienne. Cette étude a permis de confirmer les limites de l'échographie pour caractériser une macrosomie chez un fœtus de sexe masculin, hors contexte de diabète gestationnel ou d'antécédent familial, de mieux caractériser les données foetopathologiques du SGBS par rapport aux autres syndromes de croissance excessive et d'orienter l'enquête génétique.

**Mots-clés** : Syndrome de Simpson-Golabi-Behmel, GPC3, macrosomie

## CS31/#114

### Phénotypes des fœtus porteurs d'anomalies de HNF1B : étude collaborative de la SOFFOET, à propos de 20 observations.

Hélène Duval (1), Laurence Michel-Calemard (2), Marie Gonzales (3), Philippe Loget (4), Annie Buenerd (5), Madeleine Joubert (6), Frédérique Jossic (6), Alix Clemenson (7), Raymonde Bouvier (5), Anne-Laure Chesnais (8), Sophie Blesson (9), Isabelle De Pinieux (10), Anne-Lise Delezoido (11), Georges Bonyhay (12), F Dahmane (13), Françoise Menez (11), Julien Tantau (11), Claire Beneteau (14), Christine Bellanné-Chantelot (15), Laurence Heidet (16), Sylvia Cerhegini (17), Florence Dupré (1), Sophie Collardeau-Frachon (5)

1. Service de Pathologie, Centre Hospitalier Princesse Grace, Monaco, Monaco
2. Service d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, CHU Lyon, Lyon, France
3. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau APHP, Paris, France
4. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Pontchaillou, Rennes, France
5. Service de Pathologie Pédiatrique et Foetopathologie, Centre de Pathologie Est, CHU Lyon, Lyon, France
6. Service d'Anatomie Pathologique Hôtel Dieu et Hôpital Mère-Enfant, CHU Nantes, Nantes, France
7. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Saint Etienne, Saint Etienne, France
8. Laboratoire d'Anatomie Pathologique-Neuropathologique, Hôpital de la Timone, APHM, Marseille, France
9. Service de Génétique Hôpital Bretonneau, CHU Tours, Tours, France
10. Cabinet de Pathologie Léonard de Vinci, Cabinet de Pathologie Léonard de Vinci, Chambray Les Tours, France
11. Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
12. Biologie du développement, Hôpital Robert Debré APHP, Paris, France

13. Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, APHP, Université Paris Diderot, Paris, France
14. Biologie-Génétique Médicale, CHU Hôpital Mère-Enfant, Nantes, France
15. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière APHP, Paris, France
16. Centre de Référence des Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), Hôpital Necker, APHP, Paris, France
17. INSERM U569, CNRS, UMR7622, Biologie du Développement, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

**Auteur correspondant :** Duval Hélène (helene.duval@chpg.mc)

Les anomalies de HNF1B sont responsables du diabète MODY5 (Maturity Onset Diabetes of the Young) et/ou d'une atteinte rénale chez l'adulte, leur association réalisant le syndrome RCAD (Renal Cysts And Diabetes) mais les phénotypes fœtaux sont peu décrits. Matériel et méthodes : vingt observations de fœtus non apparentés, porteurs d'une anomalie de HNF1B ont été collectés. La description du phénotype s'est appuyée sur les comptes-rendus d'autopsies et la relecture des lames disponibles. Les antécédents familiaux et les points d'appel échographiques ont aussi été notés. L'ensemble a été confronté aux résultats de l'étude du gène HNF1B, analysé par dosage génique (MLPA ou PCR quantitative multiplex) et par séquençage direct à partir d'ADN extrait de tissu congelé ou de cellules amniotiques chez les fœtus, et de prélèvements sanguins chez les parents dans 14 cas.

Résultats : dans 19 cas les autopsies faisaient suite à une interruption médicale de grossesse pratiquée pour anomalies échographiques rénales bilatérales souvent associées à un oligoamnios, et pour un cas, à un décès périnatal. L'atteinte rénale bilatérale était constante, symétrique ou non, avec des kystes rénaux dans 75% des cas, préférentiellement corticaux, et microscopiquement, une maladie glomérulokystique dans 90% des cas et une dysplasie dans 70% des observations. Des anomalies du tractus urinaire entrant dans le cadre des CAKUT (Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract) comme une hypoplasie rénale, une agénésie rénale unilatérale ou une duplication urétérale étaient présentes dans plus d'un tiers des cas. Des anomalies pancréatiques, notamment une hypoplasie, étaient notées dans 75% des cas, ainsi que des anomalies des organes génitaux internes, avec un utérus bicorne chez 44% des fœtus de sexe féminin.

Les analyses moléculaires ont permis de mettre en évidence 5 mutations de novo, une mosaïque maternelle, 6 cas d'hérédité maternelle et 2 cas d'hérédité paternelle, soulignant aussi la variabilité intra-familiale des anomalies de HNF1B.

Conclusions : l'analyse détaillée de ces 20 examens fœtopathologiques complets permet de mieux connaître les manifestations fœtales associées aux anomalies de HNF1B. L'examen minutieux du pancréas et des organes génitaux internes est indispensable lors de l'autopsie d'un fœtus qui présente des anomalies rénales, notamment kystiques, ou du tractus urinaire, l'ensemble de ces manifestations associées à une maladie glomérulokystique avec ou sans dysplasie doit orienter l'étude moléculaire à la recherche d'une anomalie de HNF1B.

**Mots-clefs :** HNF1B, CAKUT, pathologie rénale

## CS32/#370

### Revue des phénotypes et des résultats moléculaires dans une cohorte de 150 patients micro/anophtalmes

Nicolas Chassaing (1,2), Alexandre Causse (1,3), Adeline Vigouroux (1), Andrée Delahaye (4,5), Jean-Luc Alessandri (6), Odile Boespflug-Tanguy (7), Odile Boute-Benejean (8), Hélène Dollfus (9), Benedicte Duban-Bedu (10), Brigitte Gilbert-Dussardier (11), Fabienne Giuliano (12), Marie Gonzales (13-14), Muriel Holder-Espinasse (8), Bertrand Isidor (15), Marie-Line Jacquemont (16), Didier Lacombe (17-18), Dominique Martin-Coignard (19), Michèle Mathieu-Dramard (20), Sylvie Odent (21), Olivier Picone (22), Lucile Pinson (23), Chloé Quelin (21), Sabine Sigaudy (24), Annick Toutain (25), Christel Thauvin-Robinet (26), Josseline Kaplan (27,28,29), Patrick Calvas (1,2).

1. CHU Toulouse, Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. Université Paul-Sabatier Toulouse III, EA-4555, CPTP, Toulouse, France
3. CHU Toulouse, Service d'Ophtalmologie, Hôpital Purpan, Toulouse, France
4. Université Paris-Nord, Paris 13, UFR SMBH, Bobigny, France
5. Inserm, U676, Paris, France
6. Service de Génétique, Hôpital Félix Guyon, GHSR-CHU la Réunion, Saint Denis, France
7. AP-HP, Hôpital Robert Debré, Service de Neurologie Pédiatrique, Paris, France
8. CHRU, Lille, Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France
9. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, CHU de Haute-pierre, Strasbourg, France
10. GHICL, Centre de Génétique Chromosomique, Lille, France
11. Service de Génétique Médicale, CHU La Milétrie, Poitiers, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital l'Archet 2, Nice, France
13. AP-HP, Service de Génétique et d'Embryologie Médicale, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
14. Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
16. Service de Génétique, Service de Néonatalogie-Pôle femme-mère-enfant, GHSR-CHU la Réunion, Saint Pierre
17. CHU Bordeaux, Service de Génétique Médicale, Bordeaux, France
18. Université de Bordeaux, Laboratoire MRGM, EA 4576, Bordeaux
19. Unité de Génétique Clinique, Centre Hospitalier du Mans, Le Mans, France
20. Unité de génétique clinique, CHU d'Amiens, Amiens, France
21. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
22. AP-HP, Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
23. Service de Génétique Médicale et Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Montpellier, France
24. Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone-Enfants, Marseille, France
25. Département de Génétique, CHU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France
26. EA 4271 GAD Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France, - Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
27. Génétique Ophtalmologique INSERM U781 Paris, France
28. Département de Génétique, APHP Hôpital Necker Paris, France
29. Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, Paris, France

**Auteur correspondant :** Chassaing nicolas (chassaing.n@chu-toulouse.fr)

Les micro/anophtalmies (M/A) sont les plus sévères des malformations de l'œil. Leur incidence est estimée à 1 sur 10000 naissances. La microphthalmie est définie par une diminution de la longueur axiale de l'œil, l'anophtalmie par une absence de structure oculaire. Les M/A peuvent être isolées, mais sont souvent associées à d'autres malformations oculaires (M/A complexes), parfois à une déficience intellectuelle, ou à des malformations d'organes (M/A syndromiques). Les causes d'origine génétique sont prépondérantes, et le risque de récurrence de M/A dans la fratrie d'un cas index est estimé entre 10 % et 15 %. Une importante hétérogénéité génétique a été démontrée, et de nombreux gènes ont été impliqués dans les M/A.

Nous avons analysé sept des principaux gènes de M/A (GDF6, FOXE3, OTX2, PAX6, RAX, SOX2, et VSX2) dans une cohorte de 150 cas index. Parmi les patients, 41 avaient une anophtalmie clinique d'au moins un œil, 53 une microphthalmie, et 56 une microphthalmie colobomateuse. L'atteinte était unilatérale chez 41 patients et bilatérale (parfois asymétrique) chez 109. L'atteinte était considérée comme « isolée » (strictement isolée, associée à une autre atteinte oculaire [microphthalmie complexe], ou associée à une déficience intellectuelle sans malformation cérébrale) chez 86 patients, et associée avec d'autres malformations chez 64 patients. La majorité des cas (122/150) étaient sporadiques. Une histoire familiale était présente pour 28 patients, évoquant 13 fois une transmission dominante (un parent atteint), douze fois une transmission récessive (atteinte dans la fratrie). Dans 3 familles le mode de transmission était inconnu (atteinte chez des cousins au premier degré). Dans notre cohorte, 14 cas index avaient des parents apparentés.

L'analyse de ces sept gènes a permis d'identifier des mutations causales chez 32 des 150 patients (21%). Des mutations ponctuelles ont été identifiées dans les gènes SOX2, RAX, OTX2, FOXE3, VSX2, PAX6, et GDF6 (respectivement 13, 4, 3, 2, 1, 1 et 1 patients). Des délétions des gènes SOX2, OTX2 et RAX

(respectivement 5, 2 et 1 patients) ont été retrouvées par QMPSF. Le taux de détection de mutation était meilleur dans les formes sévères et bilatérales.

La variabilité phénotypique associée aux mutations de ces différents gènes sera discutée, de même que l'implication de ces résultats en termes de conseil génétique.

**Mots-clefs :** anophtalmie, microophtalmie, SOX2

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

CS33/#279

### De la difficulté à formaliser un consentement commun en matière d'examens des caractéristiques génétiques d'une personne sur l'ensemble du territoire national.

Laurent Pasquier (1), Valérie Biancalana (2), Perrine Malzac (3), Laurence Faivre (4), Catherine Dugast (5), Catherine Boileau (6), Martin Krahn (7), Christophe Bérout (7), Damien Sanlaville (8), Nicolas Levy (9), Nicolas Jan (10)

1. Service de génétique clinique, CLAD Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
2. Laboratoire Diagnostic Génétique et et Department of Translational Medicine and Neurogenetics, Inserm, U964, CNRS, UMR7104, CHRU Strasbourg et Université de Strasbourg, IGBMC, Strasbourg et Illkirch, France
3. Département de Génétique Médicale et Espace Ethique Méditerranéen, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
4. Service de génétique clinique, CLAD Est, CHU Dijon, Dijon, France
5. Service d'oncogénétique, CHU Rennes et Centre Eugène Marquis, Rennes, France
6. Département de Génétique, INSERM U1148 et Fondation maladies rares, Hôpital Xavier Bichat et Faculté de Médecine Denis Diderot, Paris, France
7. Département de Génétique Médicale et INSERM UMR\_S 910, GMGF, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone et Aix-Marseille Université, Marseille, France
8. Service de Génétique et INSERM, U1028 ; CNRS, UMR5292 ; TIGER Team, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
9. Département de Génétique Médicale, INSERM UMR\_S 910, GMGF et Fondation maladies rares, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone et Aix-Marseille Université, Marseille, France
10. Fondation maladies rares, Plateforme maladies rares, Paris, France

**Auteur correspondant :** Pasquier Laurent (laurent.pasquier@chu-rennes.fr)

L'article 16-10 du Code Civil stipule qu'une formalisation écrite du consentement de la personne en matière d'examens des caractéristiques génétiques à des fins médicales est requise. En l'absence de recommandation officielle jusqu'en 2012, les médecins généticiens ont intégré cette obligation dans leur quotidien selon des perceptions liées à leur propre pratique, voire à des considérations personnelles. Les formulaires de consentement utilisés sont donc hétérogènes selon les centres.

La prescription des examens des caractéristiques génétiques est devenue très fréquente dans toutes les disciplines médicales. Elle est de plus associée, d'une part à une véritable révolution des outils technologiques permettant un criblage global de gènes voire du génome (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN – ACPA-, séquençage haut débit ciblé et exome) et d'autre part à une modification législative majeure (loi du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique concernant la diffusion d'une information à caractère génétique dans une famille). L'ensemble de ces éléments doit être pris en compte dans le cadre de l'évolution des pratiques en génétique médicale.

Compte tenu des enjeux médicaux, éthiques et juridiques associés à la prescription de ces examens de génétique (concernant tous les médecins), la Fondation maladies rares a mis en place un groupe

de travail composé de généticiens cliniciens, biologistes, issus d'associations professionnelles, de la Fédération Française de Génétique Humaine et de plusieurs de ses membres. Ce groupe a rédigé un document de consentement écrit.

Conscients des situations médicales extrêmement diverses et des imperfections inhérentes à une discipline qui dépasse un cadre strictement médical, les rédacteurs ont recherché un équilibre entre la clarté du propos et le respect de la réglementation en vigueur, entre le souci de préserver le secret médical et la reconnaissance du droit des tiers ou encore la nécessité de ne pas brider les possibilités de recherche ultérieure. Ils ont par ailleurs pris en considération l'expérience nationale acquise dans le cadre des ACPA, notamment liée à la notion de criblage à haut débit permettant de mettre en évidence des anomalies (CNV) causales non encore décrites dans la littérature et d'identifier des micro-réarrangements pathogènes non initialement recherchés. Le groupe de travail s'est par ailleurs appuyé sur des documents déjà établis dans d'autres centres Européens et internationaux.

Nous souhaitons que ce document soit discuté puis validé au cours des 7ème Assises de Génétique Humaine et Médicale, il aura vocation à une diffusion nationale, accompagné d'une note d'information pour sa bonne utilisation, et devrait faire l'objet d'une évaluation des pratiques professionnelles. Enfin, le groupe de travail aura la charge de faire évoluer le document de consentement, en fonction des avancées autour des connaissances médicales, biotechnologiques, réglementaires et jurisprudentielles.

**Mots-clefs :** Examens des caractéristiques génétiques, Consentement commun, Bonnes pratiques

CS34/#432

### Information de la parentèle dans le cadre des examens des caractéristiques génétiques : utilisation du modèle de lettre proposé par arrêté du 20 juin 2013

Emmanuelle HAQUET (1), Laetitia MONTEIL (2), Christophe CORDIER (3), Nicolas TARIS (4), Linda AKLOUL (5), Laurent PASQUIER (5), Cécile ZORDAN (6)

1. Service de Génétique Médicale CLAD Sud-Languedoc Roussillon, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
3. Service d'Oncologie et Hématologie, Hôpital Civil, Strasbourg, France
4. Service de Génétique Oncologique, CRLCC Paul Strauss, Strasbourg, France
5. Service de Génétique Clinique CLAD Ouest, Hôpital Sud, Rennes, France
6. Service de Génétique Médicale CLAD Sud-Ouest, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** ZORDAN Cécile (cecile.zordan@chu-bordeaux.fr)

La récente publication du décret n°2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale tend à modifier les pratiques des professionnels de la génétique.

Ce décret précise les modalités de transmission de l'information à la parentèle. Il recommande notamment aux praticiens d'avoir recours à une lettre type en annexe du décret. Cette lettre, anonyme, sera utilisée lorsque le consultant ne souhaite pas transmettre l'information à ses apparentés ou lorsqu'il ne souhaite pas connaître lui-même les résultats de son analyse. Elle a pour objectif d'inviter les apparentés potentiellement concernés à consulter dans un service de génétique, afin qu'ils puissent bénéficier d'un conseil génétique adapté et que puissent être envisagées chez eux, si nécessaire, des mesures de prévention et/ou de soin.

Un groupe de réflexion composé d'un médecin généticien et de 6 conseillers en génétique a élaboré un questionnaire sur la compréhension de cette lettre, les sentiments qu'elle peut susciter ainsi que la volonté d'y donner suite.



Cinq centres de génétique médicale et/ou d'oncogénétique (Bordeaux, Montpellier, Rennes, Strasbourg et Toulouse) ont recensé chacun 30 participants. Le questionnaire, comprenant 14 questions, a été proposé à deux populations : l'une concernant des patients vus en consultations dans l'un de ces centres, l'autre concernant des personnes non vues en consultation. Après lecture de cette lettre, le questionnaire a été soumis de manière anonyme à chaque participant au cours d'un entretien individuel. Les réponses des participants ont été centralisées sur un même site. Nous présentons les résultats de cette étude et discutons l'intérêt d'une proposition d'un second modèle de lettre qui serait alors soumis à l'évaluation et la validation d'une majorité de professionnels exerçant en génétique.

**Mots-clefs :** information de la parentèle, décret n°2013-527 du 20 juin 2013, modèle de lettre

## CS35/#650

### Diagnostic présymptomatique chez le mineur: Quelles demandes? Quelles pratiques? Evaluation des consultations pluridisciplinaires à la Pitié-Salpêtrière depuis 20 ans

Marilyn Fuger (1), Delphine Héron (1), Alexandra Durr (1), Marcela Gargiulo (1), Chrystelle Colas (1), Ariane Herson (1), Marie-Lise Babonneau (1), Christilla Boucher (1), Isabelle Marey (1), Sandra Whalen (1), Perrine Charles (1), Elodie Schaerer (1), Elsa Le Boëtte (1), Josué Feingold (1), Sabine Fosse (2), Audrey Mallet (1), Florent Soubrier (1), Philippe Charron (1), Aurelia Jacquette (1)

1. Département de génétique, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France  
2. service de psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

**Auteur correspondant :** Jacqueline Aurelia (aurelia.jacquette@psl.aphp.fr)

Il y a vingt ans, la réalisation des premiers tests présymptomatiques (DPS) a débuté pour la maladie de Huntington. Depuis, les demandes de DPS se sont étendues à d'autres pathologies à révélation tardive, notamment chez le mineur. La pratique de ces tests est encadrée par la loi (qui stipule que celui-ci ne peut être réalisé que par une équipe pluridisciplinaire dotée d'un protocole et déclarée à l'Agence de la Biomédecine), et obéit à un certain nombre de principes, parmi lesquels le respect du « droit de ne pas savoir », l'autonomie, la confidentialité, et un consentement éclairé. Chez le mineur, la réalisation de tels tests est rendue complexe car certaines de ces conditions ne peuvent pas toujours être respectées. La loi française (décret n° 2000-570 du 23 juin 2000) stipule que, chez le mineur asymptomatique, "les examens ne peuvent être prescrits que si le mineur ou sa famille peuvent personnellement bénéficier de mesures préventives ou curatives immédiates." et le prescripteur doit veiller à « l'intérêt du meilleur pour l'enfant ».

Dans le département de Génétique de la Salpêtrière, plusieurs protocoles de DPS (pour différentes pathologies : neurogénétique, cardiogénétique, oncogénétique...) sont déclarés à l'Agence de biomédecine et de nombreuses consultations sont dédiées à ces DPS. Nous avons donc voulu étudier nos pratiques concernant les mineurs, en particulier si les protocoles déclarés ainsi que la loi étaient bien respectés.

**Patients et méthode**

Ont été inclus dans cette étude rétrospective tous les patients âgés de moins de 18 ans lors de la première consultation de demande de DPS depuis 1993. 175 mineurs correspondaient aux critères d'inclusion et ils ont été répartis en 4 groupes (cardiologie, myologie, neurologie, oncologie). Les données médicales mais aussi l'accès au test ou non, les motivations, le respect et la chronologie du protocole ont été colligés dans une grille clinique.

**Résultats et discussion**

L'âge moyen des mineurs demandant un test est de 13 ans ( $\pm 4$ ). Les protocoles ont été respectés pour 169 patients (97%). 71% des mineurs ont réalisé le test mais cette proportion varie nettement selon la pathologie familiale (44% en neurologie, 50% en myologie, 91% en cardiologie et 97% en oncologie ( $p < 0,05$ )). 8,6% des mineurs disaient également ne pas vouloir le test dès la première consultation, soulignant l'importance de la demande parentale sous-jacente, qui parmi les motivations, est la deuxième plus fréquemment invoquée, après le souhait de connaître son statut génétique. L'étude par sous-groupe de pathologie relève également que le vécu de la maladie, le délai de réflexion pris par les mineurs, les motivations invoquées pour faire le test (demande de suivi et orientation professionnelle invoquées en cardiologie par exemple) varient selon la pathologie. Cela souligne l'importance d'une prise en charge différenciée selon la pathologie familiale et la difficile adéquation, dans certaines situations, avec le cadre légal.

**Mots-clefs :** diagnostic présymptomatique, mineurs, consultations pluridisciplinaires

## CS36/#460

### La neuropathie optique de Leber : un conseil génétique complexe

Valérie PELLETIER (1), Philippe GOSSET (2), Marguerite MIGUET (3), Yaumara PERDOMO (1), Fouzia REZAIGUIA (1), Caroline PLUMERE (1), Solange PFEIFFER (1), Hélène DOLLFUS (1)

1. CARGO - Centre de référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique, Hôpital Civil, Strasbourg, France  
2. Laboratoire de DPI, CMCO, Schiltigheim, France  
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** PELLETIER Valérie (valerie.pelletier@chru-strasbourg.fr)

La neuropathie optique de Leber (NOL) se manifeste en général par une baisse brutale et unilatérale de l'acuité visuelle, rapidement bilatéralisée et qui conduit à un handicap visuel sévère.

Cette affection est exclusivement transmise par les femmes puisqu'elle est due à des mutations de l'ADN mitochondrial. A ce jour, plus de 18 mutations ont été identifiées.

L'âge de début est extrêmement variable allant de la petite enfance jusqu'à plus de 60 ans.

Souvent isolée, cette atteinte du nerf optique peut néanmoins être associée à des troubles de la conduction cardiaque et/ou des signes neurologiques.

La risque de développer l'affection est sexe dépendant variant de 30 à 83 % pour les hommes à 5 à 32 % pour une femme.

L'état majoritairement homoplasmique des mutations, le pronostic visuel brutalement engagé, quatre à cinq fois plus élevé chez les hommes que chez les femmes, la culpabilité des mères mutées d'infliger cette « épée de Damoclès » à tous leurs enfants sont autant de considérations à prendre en compte lors du conseil génétique délivré à une femme porteuse d'une mutation responsable de NOL qui aurait un désir d'enfant.

Nous présentons quatre situations qui illustrent la complexité du conseil génétique dans le cadre de projets parentaux : au cours d'une grossesse, ou encore dans un contexte d'affections génétiques multiples. Chacun de ces cas amène à un questionnement autour du diagnostic prénatal (DPN) et/ou du diagnostic pré-implantatoire (DPI).

Dans ce contexte particulier, quelle est la place du DPI de sexe ? Du DPN ? Nous détaillerons les réflexions menées sur ces différents cas, qui nous confrontent à la souffrance des familles touchées par la neuropathie optique de Leber et aux difficultés liées au conseil génétique.

**Mots-clefs :** Neuropathie optique de Leber, conseil génétique, DPN/DPI

## CS37/#110

### Hypophosphatasie: écarts à la transmission mendélienne d'une maladie monogénique

Etienne Mornet (1,2), Agnès Taillandier (1), Linda Bellazi (2), Christelle Adam (1), Christine Muti (1), Philippe De Mazancourt (2), Brigitte Simon-Bouy (1)  
1. Unité de Génétique Constitutionnelle, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France  
2. EA2493, Université de Versailles St Quentin, Montigny le Bretonneux, France

**Auteur correspondant :** Mornet Etienne (emornet@ch-versailles.fr)

L'hypophosphatasie (HPP) est une maladie héréditaire rare affectant essentiellement la minéralisation osseuse et dentaire, et due au déficit ou à l'absence d'activité de la phosphatase alcaline non tissu-spécifique (TNAP). Six formes cliniques sont décrites en fonction de l'âge au diagnostic: périnatale (presque toujours létale), infantile, juvénile et adulte, ainsi qu'une forme n'affectant que la minéralisation dentaire (odontohypophosphatasie) et une forme prénatale bénigne caractérisée par des symptômes in utero qui évoluent favorablement. L'HPP, bien que monogénique, présente à elle seule plusieurs types d'écarts à la transmission mendélienne. On retrouve une expressivité variable, parfois intrafamiliale, une pénétrance incomplète, un biais parental de transmission de la forme prénatale bénigne et une hérédité récessive dans les formes sévères (périnatale et infantile) et dominante ou récessive dans les formes plus modérées (juvénile, adulte, odontologique et prénatale bénigne). Notre laboratoire a réalisé le diagnostic moléculaire de 415 cas index de toutes origines géographiques parmi lesquels il a été possible d'étudier les parents et parfois d'autres apparentés dans 276 cas. Cette cohorte exceptionnelle, qui sera présentée, permet d'étudier les caractéristiques génétiques particulières de l'HPP. L'expressivité variable est essentiellement due à l'hétérogénéité allélique du gène ALPL, mais on retrouve pour un même génotype récurrent des phénotypes différents dans 30% des cas aussi bien dans les formes récessives que dans les formes dominantes. Cette variabilité concerne deux classes phénotypiques adjacentes dans 3/4 des cas et ne concerne jamais deux formes radicalement différentes (par exemple une forme adulte et une forme létale périnatale). Cette part de l'expressivité variable pourrait être due au moins en partie à la classification phénotypique basée sur l'âge au diagnostic, mais peut être aussi à des facteurs génétiques (gènes modificateurs), environnementaux ou épigénétiques. La pénétrance dans les formes récessives de l'HPP est complète (100%) tandis que la pénétrance des formes dominantes, mesurée chez les parents, est incomplète (32%). Cette pénétrance incomplète affecte la plupart des mutations à effet dominant négatif sans distinction, quelque soit la force de l'effet dominant négatif mesuré par mutagenèse dirigée. Aucun biais parental de transmission n'est observé dans les formes dominantes juvénile, adulte ou odontologique. Au contraire, parmi les 6 cas de forme prénatale bénigne transmis sur le mode dominant, 5 étaient d'origine maternelle. Ajoutés aux 11 cas publiés dans la littérature et dont l'origine parentale est déterminée, les formes prénatales bénignes dominantes sont d'origine maternelle dans 82% des cas (14/17), confirmant que cette forme clinique est associée à un biais parental de transmission. La connaissance de l'ensemble de ces écarts à la transmission mendélienne est indispensable au conseil génétique.

**Mots-clefs :** Hypophosphatasie, Ecart à la transmission mendélienne, Biais parental de transmission

## CS38/#594

### Test génétique prédictif dans les maladies cardiaques héréditaires : A propos d'une série monocentrique de plus de 300 sujets

Céline BORDET (1), Elsa LE BOETTE (1), Audrey MALLET (1), Marie Lise BABONNEAU (1), Sabine FOSSE (2), Marcela GARGIULO (1), Josué FEINGOLD (1), Estelle GANDJBAKHCH (1), Véronique FRESSART (3), Pascale RICHARD (3), Michel KOMADJA (4), Delphine HERON (1), Philippe CHARRON (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, PARIS, France
2. service de pédopsychiatrie, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, PARIS, France
3. UF cardiogénétique, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, PARIS, France
4. Cardiologie, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, PARIS, France

**Auteur correspondant :** LE BOETTE Elsa (sasalb@hotmail.com)

**Contexte.** Les maladies cardiaques héréditaires sont des maladies à transmission habituellement autosomique dominante, avec une pénétrance liée à l'âge et donc une expression cardiaque volontiers retardée. Les connaissances moléculaires ont permis le développement croissant du test génétique et notamment la préconisation d'un diagnostic génétique prédictif chez les apparentés asymptomatiques. En effet il existe un bénéfice médical à connaître le statut génétique, pour permettre une prise en charge médicale ciblée et la mise en place précoce de la thérapeutique afin de réduire le risque de complications. Les enjeux psychologiques et socio-professionnels sont cependant complexes. Les premières consultations de tests prédictifs pour des maladies cardiaques héréditaires ont été mise en place en 1999 au sein du service de génétique de la Pitié-Salpêtrière (Paris). Le protocole (prise en charge multidisciplinaire et délai de réflexion) et les principes habituels des tests prédictifs (autonomie du patient, droit de ne pas savoir, information adaptée) ont été respectés.

**Objectif.** Evaluer nos pratiques du test prédictif dans les maladies cardiaques héréditaires et étudier l'attitude des consultants après la consultation pluridisciplinaire initiale.

**Méthodes et résultat.** Nous avons étudié rétrospectivement les dossiers d'une série consécutive de 315 apparentés vus dans notre service pour une demande de test prédictif. La série comporte 278 apparentés majeurs et 37 mineurs au moment de la 1ère consultation, avec une légère majorité de femmes (57%). Les indications concernaient les principaux groupes de maladies cardiaques héréditaires : cardiomyopathies, troubles du rythme/trouble de la conduction et maladies vasculaires. Après consultation initiale et discussion des enjeux, 19 sujets ont renoncé au test génétique (6%) et 7 apparentés (2%) ont fait le test mais ne sont pas venus chercher leur résultat. Sur les 295 tests génétiques réalisés, dont 5 pour une recherche de double mutation, la mutation familiale n'a été retrouvée que dans 36% des cas (106 porteurs et 188 non porteurs de mutation). Un total de 21 gènes différents a été étudié, les plus récurrents étant les gènes MYBPC3 (97), MYH7 (77), LMNA (37), PKP2 (29) et TNNT2 (16). L'analyse approfondie des 315 dossiers est en cours de façon à préciser divers éléments (bilan cardiaque réalisé avant test et au décours, délai entre la consultation / la prise de sang / le rendu de résultat, les conséquences socio-professionnelles du résultat).

**Conclusions et perspectives.** Ce travail rétrospectif montre le fort taux de test réalisé après consultation pluridisciplinaire mais aussi une faible minorité qui choisit finalement de ne pas connaître son statut, illustrant l'intérêt du délai de réflexion. Une étude prospective est en cours dans le service de façon à pouvoir mieux analyser l'impact psychologique et socio-professionnel du test génétique prédictif dans les maladies cardiaques héréditaires.

**Mots-clefs :** Maladies Cardiaques Héréditaires, Diagnostic présymptomatique, étude rétrospective

## CS39/#230

### L'information de la parentèle à l'épreuve de la casuistique

Emilie Consolino (2), Rafaele Bernard (1), Tiffany Busa (2), Catherine Gensollen (2), Brigitte Jarret (2), Audrey Mallet (2), Chantal Missirian (3), Karine Nguyen (2), Marie Christine Manca Pellissier (3), Odile Perret (2), Nicole Philip (2), Sabine Sigaudy (2), Ségolène Vergoz (2), Marie Antoinette Voelckel (2), Hélène Zattara (2), Perrine Malzac (4)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France
2. Génétique Clinique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France
4. Espace Ethique Méditerranéen, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France

**Auteur correspondant :** CONSOLINO Emilie (emilie.consolino@ap-hm.fr)

Nous proposons, à partir de l'étude de situations étudiées dans le cadre d'un groupe de réflexion « Ethique et conseil génétique », une analyse critique de la démarche d'information de la parentèle en génétique.

**Méthodologie :**

Un travail de réflexion éthique a été mis en œuvre au sein du Département de Génétique Médicale de Marseille, en collaboration avec l'Espace Ethique Méditerranéen (AP-HM), depuis février 2012. Lors de chaque réunion, une fois par mois, un dossier est présenté et étudié pendant 1H30, selon une méthodologie de débat éthique. A ce jour, 15 situations ont fait l'objet d'une analyse approfondie au regard des dilemmes éthiques rencontrés par les professionnels. L'ensemble des acteurs des secteurs cliniques de génétique médicale (génétique constitutionnelle, oncogénétique, centre de diagnostic prénatal), généticiens cliniciens, biologistes, psychologues et conseillers en génétique, participent aux débats. Les éléments d'analyse des situations proposées sont co-construits lors des prises de paroles, en lien avec les principes de respect de l'autonomie, de bienfaisance, de non malfaisance et de justice décrits par Childress et Beauchamp(1). Ils sont aussi mis en regard des textes d'encadrement juridique (Loi n°2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique ; Arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales ; Décret n°2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de la mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale)(2).

**Résultats :**

Parmi les cas étudiés, plusieurs nous ont amené à aborder la démarche de l'information familiale et les questions suivantes:

-Les préoccupations concernant l'information de la parentèle et sa mise en œuvre ne risquent-elles pas, en focalisant l'attention sur les proches, d'interférer sur la qualité de la prise en charge du proposant?

-Quelles sont les obligations et les responsabilités en matière d'information familiale lorsque la parentèle à risque est la famille par alliance du consultant, en cas du décès du conjoint malade par exemple?

-Que faire en cas de refus ferme et absolu d'informer la parentèle en raison de conflits graves et avérés?

-Le devoir d'information concerne-t-il les seules questions abordées par la personne au cours de la consultation, ou doit-il s'étendre à ce qui peut être découvert fortuitement lors de la reconstitution de l'arbre généalogique par exemple?

A travers le récit de plusieurs situations singulières, nous illustrerons les questionnements abordés et tenterons de porter sur chacun d'eux un regard constructif en vue de l'amélioration des pratiques, au service des patients et dans le respect l'esprit de la loi.

(1) Tom L. Beauchamp, James F. Childress

Principles of Biomedical Ethics, Oxford University Press, 2008

(2) <http://www.legifrance.gouv.fr/>

**Mots-clefs :** information parentèle, éthique, conseil génétique

## CS40/#750

### La médecine personnalisée entre le réel et l'imaginaire

Chantal Bouffard (1), Gabrielle Lapointe (1), Régen Drouin (1)

1. Génétique, Faculté de médecine Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

**Auteur correspondant :** Bouffard Chantal (chantal.bouffard@icloud.com)

Les technologies génomiques et numériques et la collaboration intensive des milieux académiques, politiques et industriels contribuent à un déploiement éclaté de la médecine personnalisée (MP). Ainsi, le terme prend un sens différent selon les domaines d'applications. Il est aussi difficile d'avoir une vue d'ensemble si on se représente la MP comme un changement de paradigme médical ou si on soutient que la médecine a toujours été personnalisée. Par contre, si on observe la façon dont elle se développe et s'institutionnalise, on constate qu'elle constitue un projet international bien structuré et financé avec des objectifs précis. Ainsi, la MP peut être comprise comme nouveau système de médecine, constitué sur la base de traditions et de secteurs médicaux, issus de contextes historiques et culturels spécifiques et utilisés pour se maintenir en santé. La MP est un vaste projet social et médical, avec des modèles explicatifs de la maladie et des pratiques fondés sur l'analyse d'informations génomiques, biologiques, environnementales, socioculturelles et comportementales cumulées sur un individu. Ses objectifs sont: 1) d'évaluer ses risques d'être atteint d'une maladie et 2) de déterminer les approches préventives et thérapeutiques les plus efficaces pour cet individu. La médecine des «4P»: Prédictive, Préventive, Personnalisée et Participative est ce qui se rapproche le plus de la MP: «(w)e are all different. Our genomes are different, and our micro and macro environments are different. In the future, diseases will be stratified according to the genetic make-up of the individual, and, in turn, treatments will be individually optimized. Individuals will be their own control in establishing a wellness baseline, monitoring the progression to disease state, and monitoring treatments that will perturb the systems back to a healthy state». La santé est définie comme un état de bien-être global et la maladie est un phénomène prévisible, dépendant d'interactions complexes entre des réseaux intrinsèques et extrinsèques à un individu. Les approches curatives et préventives s'appuient sur les billions d'informations numérisées, accessibles via les banques de données et les réseaux sociaux. La signification du mot personnalisé est donc plus positionnelle que relationnelle. La personne n'est plus au centre de la relation médecin-patients, mais des réseaux biologiques et sociaux où, en tant que citoyen et demandeur de services de santé, elle est appelée à contribuer activement: 1) à la gestion des informations qui la concerne et 2) aux processus décisionnels sur les actions à prendre pour conserver son état de bien-être général. Ainsi, pour éviter la transformation du patient en consommateur et du médecin en interprète, pour empêcher des disparités sociales basées sur le savoir, nous devons laisser tomber les débats sémantiques et avoir pleine conscience de ce qu'est la MP. Tout encadrement ou politique de santé fermée à ces réalités sera vite contournée.

**Mots-clefs :** médecine personnalisée, socio-éthique, anthropologie médicale



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

CS41/#336

### Le syndrome microdélétionnel 22q11.2, une série française de 980 patients

Céline POIRSIER (1), Justine BESSEAU-AYASSE (2), Anne BAZIN (3), Florence AMBLARD (4), Marie-Paule BEAUJARD (5), Sonia BOUQUILLON (6), Jean-Luc BRESSON (7), Sophie BRISSET (8), Tiffany BUSA (9), Frédérique CARRE-PIGEON (10), François CARTAULT (11), Marie CATTY (12), Agnès CHOISSET (13), Cindy COLSON (14), Alain COUSSEMENT (13), Marie-Claire DEBLOIS (5), Nathalie DROUET GUILBERT (15), Céline DUPONT (16), Elisabeth FLORI (17), Vincent GATINOIS (18), Françoise GIRARD (17), Nicolas GRUCHY (14), Abdel HEDDAR (19), Mélanie JIMENEZ (20), Géraldine JOLY-HELAS (19), Philippe JONVEAUX (21), Paul KUENTZ (7), Hakima LALLAOUI (22), Nathalie LE MEUR (23), CEDRIC LECAIGNEC (24), Bruno LEHEUP (25), James LESPINASSE (26), Pascaline LETARD (16), Dominique MARTIN (27), Denise MOLINA GOMES (28), Anne MONCLA (29), Francine MUGNERET (30), Eric NOWAK (31), Céline PEBREL-RICHARD (32), Fanny PELLUARD (33), Nicole PHILIP (9), Eva PIPIRAS (34), Ghislaine PLESSIS (14), Marie-France PORTNOI (35), Fabienne PRIEUR (36), Aline RECEVEUR (37), Annick ROSSI (23), Caroline SCHLUTH-BOLARD (38), Anne-Claude TABET (16), Sylvie TAPIA (39), Michel TBOUL (40), Marianne TILL (38), Jérôme TOUTAIN (41), Pierre VAGO (32), Mylène VALDUGA (21), Catherine YARDIN (42), Pascale KLEINFINGER (43), François VIALARD (44), Martine DOCO-FENZY (45)

1. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Reims, REIMS, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Saint Germain Poissy, POISSY, France
3. Laboratoire de cytogénétique, Pasteur-Cerba, Saint-Ouen l'Aumone, France
4. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Grenoble, Grenoble, France
5. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Necker, Paris, France
6. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Lille, Lille, France
7. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Besançon, Besançon, France
8. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Béclicère, Clamart, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU de Marseille, Marseille, France
10. Laboratoire de cytogénétique, CHU Reims, Reims, France
11. Laboratoire de cytogénétique, CHU Saint-Denis, Saint-Denis de la Réunion, France
12. Laboratoire de cytogénétique, Biolille, Lille, France
13. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris, France
14. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Caen, Caen, France
15. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Brest, Brest, France
16. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
17. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
18. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
19. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Rouen, Rouen, France
20. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Tours, Tours, France
21. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Nancy, Nancy, France
22. Laboratoire de cytogénétique, Cylab, La Rochelle, France
23. Laboratoire de cytogénétique, EFS de Normandie, Rouen, France
24. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Nantes, Nantes, France
25. Service de Génétique clinique, CHU de Nancy, Nancy, France
26. Laboratoire de cytogénétique, CH de Chambéry, Chambéry, France
27. Laboratoire de cytogénétique, CH du Mans, Le Mans, France
28. Laboratoire de cytogénétique, CH de Poissy Saint-Germain, Poissy, France
29. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Marseille, Marseille, France
30. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France
31. Laboratoire de cytogénétique, Bioxa, Reims, France
32. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
33. Service de pathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
34. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
35. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
36. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
37. Laboratoire de cytogénétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
38. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Lyon, Lyon, France
39. Laboratoire de cytogénétique, Biominis, Paris, France
40. Laboratoire de cytogénétique, Atoubio, Nancy, France
41. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
42. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Limoges, Limoges, France

43. Laboratoire de cytogénétique, Pasteur-Cerba, Saint Ouen l'Aumone, France
44. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital de Poissy Saint Germain, Poissy, France
45. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Reims, Reims, France

**Auteur correspondant :** POIRSIER Céline (cviolle-poirsier@chu-reims.fr)

**Introduction :** Le syndrome microdélétionnel 22q11 (SMD22q11) est une maladie rare, liée à une délétion hétérozygote de la région chromosomique 22q11.2. La prévalence à la naissance est estimée entre 1/3000 et 1/10 000 naissances vivantes. De nombreux signes ont été décrits chez les patients avec un SMD22q11, encore dénommé syndrome de DiGeorge (OMIM 188400) ou syndrome vélo-cardio-facial (OMIM 192430). Néanmoins, il existe une grande variabilité phénotypique rendant le diagnostic parfois difficile. De plus, il n'existe pas de grande série décrivant le phénotype fœtal et les signes d'appel échographiques (SAE) en anténatal.

**Matériels et Méthodes :** Nous rapportons une étude rétrospective, multicentrique, de 980 patients avec un SMD22q11 collectés auprès de 37 laboratoires de cytogénétiques français (ACLF).

**Résultats :** En moyenne, sur ces 5 dernières années, 95 nouveaux cas ont été diagnostiqués par an dont un tiers des cas sont diagnostiqués en anténatal.

Ainsi, 272 fœtus ont été dépistés dans le cadre d'une enquête familiale ou sur SAE. Comme attendu, une cardiopathie était retrouvée chez 83,8% des fœtus. Les autres SAE retrouvés étaient un hydramnios chez 9,2% des fœtus, parfois isolé, puis par ordre de fréquence : une anomalie rénale, une hyperclarté nucale, et une malposition des pieds. Les parents optaient pour une interruption médicale de grossesse dans 68,9% des cas. L'étude des anomalies identifiées à l'examen foetopathologique a mis en évidence une sensibilité de l'échographie de 50% pour les anomalies rénales, et inférieure à 10% pour la détection des anomalies thymiques et de la dysmorphie faciale.

En post-natal, 50,1% des patients étaient dépistés avant 5 ans et 6,4% avaient présentés des signes anténataux (hydramnios, RCIU). Concernant le phénotype des 708 patients diagnostiqués en post-natal, 51,9% avaient une cardiopathie (le plus souvent une CIV), 53,6% une dysmorphie faciale, 8,4% une malformation palatine et 10,2% une insuffisance vélaire, 44,7% un développement cognitif anormal et 7,2% des troubles psychiatriques.

La microdélétion 22q11 était héritée dans 24,1% des cas, le plus souvent d'origine maternelle.

**Conclusion :** Ce travail nous a permis d'estimer la prévalence globale à la naissance du SMD22q11, en France, au minimum à 1/6500 naissances vivantes. Cette anomalie constitue probablement la 2ème anomalie chromosomique, après la trisomie 21, pour l'indication de déficience intellectuelle et/ou malformations. Nous comparons les phénotypes fœtaux et post-nataux aux données de la littérature et discutons les indications de recherche de microdélétion 22q11.

**Mots-cléfs :** Délétion 22q11.2, prénatal et postnatal, épidémiologie

CS42/#744

### Phénotype associé à la microdélétion 15q11.2 (BP1-BP2): une série de 51 patients

Clémence Vanlerberghe (1), Florence Petit (2), Valérie Malan (3), Catherine Vincent-Delorme (2), Sonia Bouquillon (1), Odile Boute (2), Muriel Holder-Espinasse (4), Bruno Delobel (5), Bénédicte Duban (5), Louis Vallee (6), Jean Marie Cuisset (6), Marie Pierre Lemaitre (6), Marie Christine Vantghem (7), Marie Pigeyre (7), Sandrine Lanco-Dosen (8), Ghislaine Plessis (9), Marion Gerard (9), Guillaume Jedraszak (10), Michèle Mathieu (10), Gilles Morin (10), Frédéric Bilan (11), Brigitte Gilbert-Dussardier (12), Delphine Fauvert (13), Joëlle Roume (14), Valérie Cormier-Daire (15), Roseline Caumes (16), Jacques Puechberty (17), David Genevieve (17), Pierre Sarda (17), Lucile Pinson (17), Patricia Blanchet (17), Nathalie Lemeur (18), Sylvie Manouvrier (2), Joris Andrieux (1)

1. Institut de génétique médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
2. Service de génétique clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
3. Service de cytogénétique et d'embryologie, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
4. Department of Clinical Genetics, Guy's hospital, London, Royaume-Uni
5. Centre de cytogénétique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
6. Service de neuropédiatrie, Hôpital Roger Salengro, CHRU Lille, Lille, France
7. Service d'endocrinologie, Hôpital Claude Huriez, CHRU Lille, Lille, France
8. Service de neuropédiatrie, Hôpital de Sambre-Avesnois, Maubeuge, France
9. Service de génétique clinique, CHU Caen, Caen, France
10. Service de génétique clinique, CHU Amiens, Amiens, France
11. Laboratoire de génétique cellulaire et moléculaire, Pôle Biologie Santé, CHU Poitiers, Poitiers, France
12. Service de génétique clinique, La Milétrie, CHU Poitiers, Poitiers, France
13. Service de cytogénétique, CHI Poissy, Poissy, France
14. Unité de génétique médicale, CHI Poissy, Poissy, France
15. Unité de génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
16. Unité de génétique médicale, Hôpital Necker Enfants malades, APHP, Paris, France
17. Service de génétique médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France
18. Service de cytogénétique, CHU Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Vanlerberghe Clémence  
(clemence.vanlerberghe@gmail.com)

La région proximale du bras long du chromosome 15 est riche en duplicons, définissant 5 points de cassures (BP) pour les réarrangements en 15q. La microdélétion 15q11.2 entre BP1 et BP2 a été précédemment décrite associée à la déficience intellectuelle et aux troubles du comportement. Cette région contient 4 gènes, hautement conservés et non soumis à l'empreinte : NIPA1, NIPA2, CYFIP1, TUBGCP5. Notre but est, ici, de redéfinir le phénotype associé à cette microdélétion dans une large cohorte de patients.

La prévalence de ce Copy-Number-Variant (CNV) est calculée à 0,8% dans notre population de patients présentant des retards de développement, des troubles du comportement associé ou non à des malformations congénitales, étudiés en ACPA dans 6 laboratoires de génétique français différents. Après exclusion des patients présentant une anomalie génétique associée (CNV connu, aneuploidie, maladie monogénique), nous avons recueilli les informations cliniques de 51 patients non apparentés.

67,5% des patients présentaient une déficience intellectuelle légère à modérée, 85% avaient des troubles du langage, et 65% avaient des troubles du comportement (troubles attentionnels et hyperactivité, troubles autistiques ou troubles obsessionnels compulsifs). Des crises épileptiques étaient décrites chez 19,1% des patients et 19,6% avaient une cardiopathie congénitale associée. Les parents des cas index ont pu être étudiés dans 62,7% des familles. Au sein de ces familles, 18,8% des microdélétions étaient de novo et 81,2% étaient héritées de l'un des parents. Une pénétrance incomplète et une variabilité d'expression étaient observées entre les patients.

Nos résultats confirment l'hypothèse d'une association entre la microdélétion 15q11.2 (BP1-BP2) et la déficience intellectuelle, les troubles du comportement, l'épilepsie et les cardiopathies congénitales. Cette dernière association n'avait, à notre connaissance, jamais été décrite. De plus amples études cliniques et moléculaires sont nécessaires afin de mieux comprendre la pénétrance incomplète et l'importante variabilité d'expression observées dans ce CNV.

**Mots-clés :** 15q11.2 microdeletion, cardiopathies congénitales, CYFIP1

**CS43/#480**

## Réarrangements chromosomiques d'une région soumise à empreinte : conséquences fonctionnelles supposées et phénotype associé à 8 microduplications de la région 11p15

Sandra Chantot-Bastarud (1), Boris Keren (2), Frédéric Brioude (3), Salah Azzi (4), Sylvie Rossignol (3), Jean-Pierre Siffroi (5), Yves Lebouc (6), Irène Netchine (3)

1. Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Service d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, INSERM U938, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Service d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, INSERM U938, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Service d'Explorations Endocriniennes Fonctionnelles, INSERM U938, Hôpital Trousseau, Paris, France

**Auteur correspondant :** Chantot-Bastarud Sandra (sandra.chantot-bastarud@trs.aphp.fr)

La région 11p15 contient deux clusters de gènes impliqués dans la croissance pré et postnatale et soumis à l'empreinte parentale. Ces gènes sont regroupés en un domaine centromérique et un domaine télomérique. Leur expression est contrôlée par deux régions de contrôle de l'empreinte : ICR1 et ICR2. Pour le domaine télomérique, l'empreinte réciproque du gène H19 exprimé par l'allèle maternel et du gène IGF2 exprimé par l'allèle paternel dépendent de l'ICR1 méthylé différenciellement en amont du gène H19. Pour le domaine centromérique, l'ICR2, méthylé sur l'allèle maternel, contrôle l'expression monoallélique de l'inhibiteur des cyclines-cdkc de la phase G1 (CDKN1c) et du canal potassique KCNQ1. L'ARN antisens non codant KCNQ1OT1 produit par l'allèle paternel non méthylé, induit le silence de tous les gènes paternels du domaine. Dans cette région, les gènes d'expression maternels tels CDKN1C freinent la croissance tandis que les gènes d'expression paternels tel IGF2 stimulent la croissance et les anomalies de cette région sont associées à deux syndromes avec trouble de la croissance: le syndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW) avec croissance excessive et le syndrome de Silver-Russel (SSR) avec retard de croissance. Ces phénotypes opposés résultent d'anomalies génétiques ou épigénétiques en miroir de cette région avec diminution des gènes d'expression maternelle ou surexpression de gènes d'expression paternelle pour le SBW et diminution d'expression des gènes d'expression maternelle ou surexpression des gènes d'expression maternelle pour le SSR. Environ 60% des SSR et des SBW sont liés à des anomalies de méthylation isolées d'ICR1 ou d'ICR2 cependant le pourcentage de ces anomalies de méthylation secondaires à un défaut de mécanisme de régulation soit en cis soit en trans n'est pas connu. Le domaine centromérique est rarement affecté dans le SSR alors que 60% des SBW sont liés à des pertes de méthylation d'ICR2. Les disomies uniparentales paternelles par recombinaison mitotique postzygotique représentent 20% des SBW mais les disomies uniparentales maternelles dans le SSR sont exceptionnelles. Les anomalies cytogénétiques sont rares et représentent moins de 3% des causes de SSR ou SBW. Si les grandes duplications affectant les deux centres d'empreintes sont connues pour être associées à un SSR ou un SBW selon l'origine parentale du remaniement, les variations de nombre de copie (CNV) de petites tailles affectant l'un ou l'autre des domaines en totalité ou partiellement n'ont été décrites que plus récemment. Ces CNV sont d'interprétation parfois délicates, à confronter au phénotype et aux données de méthylation. Nous décrivons le phénotype et les données de méthylation de 8 nouveaux cas de microduplication de la région 11p15 impliquant soit les deux domaines ICR1 et ICR2 soit un seul des deux domaines soit encore une partie seulement d'un des deux domaines et discutons des possibles conséquences fonctionnelles de ces réarrangements.

**Mots-clés :** Microduplication 11p15, empreinte parentale, croissance foetale



**CS44/#199****DNM3, gène majeur responsable du phénotype de la délétion 1q24q25 ? A propos de 18 nouveaux patients.**

Nicolas Chatron (1), Véronique Haddad (2), Joris Andrieux (3), Julie Désir (4), Odile Boute (5), Clarisse Baumann (6), Séverine Drunat (6), Marion Gérard (7), Céline Bonnet (8), Bruno Leheup (9), Marianne Till (10), Massimiliano Rossi (11), Elisabeth Flori (12), Yves Alembik (13), Helen Stewart (14), Joanna McParland (14), Christine Hall (14), Laura Bernardini (15), Pia Cast (15), Laura Roos (16), Zeynep Tümer (17), Anne Dieux (5), Kerry Fagan (18), Anna Hackett (18), Arie van Haeringen (19), Claudia Ruivekamp (20), Brigitte Benzacken (21), Damien Sanlaville (22), Patrick Edery (23), Azzedine Aboura (24), Caroline Schluth-Bolard (22)

- Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
- Unité de Cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris et, Laboratoire de Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
- Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
- Centre de Génétique Humaine, Institut de Génétique et de Pathologie, Gosselies, Belgique
- Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
- Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, CHU Paris, Paris, France
- Service de Génétique, Hôpital Clémenceau, CHU Caen, Caen, France
- Laboratoire de Génétique, Pôle Laboratoire, CHU Nancy, Unité INSERM 954, Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France
- Service de Médecine Infantile et de Génétique Clinique, Pôle Enfants, CHU Nancy, Unité INSERM 954, Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France
- Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
- Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
- Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
- Service de Génétique Clinique, Hôpital de Hautepierre, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
- Department of Clinical Genetics, Churchill Hospital, Oxford, Royaume-Uni
- Laboratorio di Biologia Molecolare e Citogenetica, Istituto CSS Mendel, Rome, Italie
- Department of Clinical Genetics, Kennedy Center, Glostrup, Danemark
- Human Molecular Genetics Institute for Cellular and Molecular Medicine, Faculty of Health Science, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
- Bagric, ARCPA, FHGSA, HAPS, Newcastle University, NSW, Australie
- Department of Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-bas
- Clinical Cytogeneticist Laboratory for Diagnostic Genome Analysis, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-bas
- Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Jean Verdier, CHU Paris, Paris, France
- Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Equipe TIGER, Lyon, France
- Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Equipe TIGER, Lyon, France
- Unité de Cytogénétique, Hôpital Robert Debré, CHU Paris, Paris, France

**Auteur correspondant :** Schluth-Bolard Caroline (caroline.schluth@yahoo.fr)

La délétion 1q24q25 est une anomalie chromosomique rare, associée à un retard de croissance pré et postnatal, une dysmorphie faciale, des anomalies des extrémités et une déficience intellectuelle. Une région minimale critique de 1,9 Mb (chr1: 171869242-173832704, Hg 19) comprenant 13 gènes a récemment été décrite.

Nous décrivons ici la plus grande série rapportée à ce jour. Il s'agit d'une série internationale de 18 patients porteurs d'une délétion 1q24q25, 4 hommes et 14 femmes, âgés de 2 jours à 67 ans, dont deux cas familiaux.

Cliniquement, les patients présentent un phénotype identifiable caractérisé par une déficience intellectuelle modérée à légère (17/17, 100%), un retard de croissance intra-utérin (12/13, 92%) et post-natal (16/17, 94%), une microcéphalie (14/18, 77%), des mains et pieds courts (15/17, 88%) avec une brachydactylie (12/17, 70%), une clinodactylie du 5e doigt (14/18, 78%), une dysmorphie faciale avec une pointe du nez bulbeuse (13/18, 72%), des oreilles

dysplasiques (12/18, 67%) et une micrognathie (10/18, 56%). Il s'y associe de façon plus inconstante des anomalies du palais (9/18, 50%), un pli palmaire transverse unique (9/17, 53%), des malformations rénales (5/13, 38%), cardiaques (5/13, 38%) et des organes génitaux externes (3/13, 23%).

Les délétions ont été caractérisées par CGH-array et vérifiées par FISH ou par qPCR. Ces délétions impliquaient les bandes 1q23.3 à 1q25.3 (chr1:160.797.550-192.912.120, hg19) avec une taille allant de 490 kb à 20,95 Mb. Aucune corrélation entre la taille de la délétion et le phénotype n'a été mise en évidence. Une région minimale délétée de 490 kb (chr1:171.970.575-172.460.683, hg19), contenant les gènes DNM3, C1orf105 et PIGC, apparaît être suffisante pour conduire au phénotype. Le gène DNM3 code pour la dynamine 3, une GTPase d'expression cérébrale et de localisation post-synaptique impliquée dans la morphogenèse dendritique et l'endocytose. De plus, la séquence de DNM3 contient plusieurs microRNA, dont MIR3120 impliqué dans le recyclage des vésicules synaptiques et les MIR214 et MIR199A2, dont le KO murin se manifeste par une petite taille, une faible prise de poids et des anomalies osseuses. Toutefois, d'autres gènes de la région 1q24q25 pourraient également participer au phénotype, comme le gène CENPL codant pour la protéine centimétrique L qui pourrait contribuer au retard de croissance.

En conclusion, cette série de 18 patients a permis d'affiner le phénotype des patients porteurs de la délétion 1q24q25, de réduire la région minimale de la délétion et d'identifier le gène DNM3 comme participant de façon majeure au phénotype avec notamment le retard de croissance, les anomalies squelettiques et la déficience intellectuelle.

**Mots-clefs :** Délétion 1q24q25, Brachydactylie, DNM3

**CS45/#280****Développement de la cytogénétique des cellules souches pluripotentes.**

Franck PELLESTOR (1), Jacques PUECHBERTY (2), Vincent GATINOIS (1), Anouck SCHNEIDER (1), Sylvie TAVIAUX (1), Geneviève LEFORT (1)

- Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
- Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** PELLESTOR Franck (f-pellestor@chu-montpellier.fr)

La recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines (hES) et les cellules pluripotentes induites (IPS) offre un immense potentiel pour le développement de nouvelles thérapies cellulaires et géniques applicables à des maladies et des lésions graves. Ces cellules pourraient constituer un réservoir permanent de cellules pour réparer les organes malades ou endommagés et, dans certains cas, cette médecine régénérative pourrait se substituer aux greffes d'organes. Les recherches menées sur les cellules hES et IPS connaissent un accroissement constant. Plus de 600 lignées de cellules hES ont déjà été créées dans une vingtaine de pays. En France, une quarantaine d'équipes sont actuellement autorisées à travailler sur les hES et les IPS. Si de nombreux travaux étudiant la différenciation des cellules hES et IPS sont actuellement au stade du laboratoire, beaucoup ont clairement une finalité thérapeutique. En parallèle à ces avancées, plusieurs études récentes ont mis l'accent sur le risque d'instabilité chromosomique et génétique des lignées de cellules hES et IPS créées en laboratoire. En particulier, la récurrence d'anomalies chromosomiques touchant les chromosomes 8, 12, 17, 20 et X a été notée. Certaines sont des anomalies retrouvées dans divers types de cancer. Les données issues d'analyses sur puces à ADN ont confirmé l'existence de cette instabilité du génome des cellules pluripotentes, en mettant en exergue le rôle du mode et du temps de culture dans l'émergence

de ces anomalies, ainsi que la question des anomalies épigénétiques au cours de la reprogrammation des cellules IPS. Récemment de nouveaux mécanismes de production de déséquilibres génomiques complexes, tel que le phénomène de chromothripsis, ont été identifiés. Ils peuvent concerner les lignées de cellules pluripotentes, en particulier IPS, compte tenu du stress cellulaire que constitue leur reprogrammation forcée.

L'établissement d'un contrôle optimal de la qualité de ces cellules est donc un point essentiel pour la normalisation de la production des cellules souches pluripotentes. Parmi les critères de contrôle retenus par les instances nationales et internationales en charge de la réglementation sur les cellules souches, la caractérisation génétique des lignées de cellules souches pluripotentes apparaît comme une priorité. Tous les documents publiés font référence à l'analyse chromosomique conventionnelle et moléculaire des lignées de cellules hES et IPS. Ils préconisent le recours à un panel d'examen comprenant le caryotype, l'analyse sur noyaux par hybridation in situ fluorescente (FISH) et l'analyse chromosomique sur puces à ADN.

Le développement de ce nouveau domaine d'activité cytogénétique est présenté à partir des données de la littérature et des analyses réalisées dans notre laboratoire de cytogénétique sur des lignées de cellules hES et IPS issues de plusieurs laboratoires de recherche et des plateformes de production de cellules souches pluripotentes.

**Mots-clefs :** Cellules pluripotentes, Anomalies chromosomiques, Instabilité génomique

## CS46/#596

### Utilisation de l'analyse chromosomique par puce à ADN pour le diagnostic étiologique d'anomalies du développement sexuel

Sylvie Jaillard (1), Anu Bashamboo (2), Laurent Pasquier (3), Josette Lucas (4), Sylvie Odent (3), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (4), Ken Mc Elreavey (2), Célia Ravel (1)

1. Département d'Histologie et Embryologie, Université Rennes 1, Rennes, France
2. Unité Génétique du Développement Humain, Institut Pasteur, Paris, France
3. Service de Génétique Clinique, CLAD Ouest, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
4. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France

**Auteur correspondant :** Jaillard Sylvie (sylviejaillard@yahoo.fr)

Les connaissances concernant la génétique du développement gonadique ont rapidement progressé durant ces dernières années. Néanmoins, les étiologies responsables de l'apparition d'anomalies du développement sexuel (DSD), notamment les femmes 46,XY, ne sont pas complètement identifiées. Jusqu'à récemment, le caryotype était l'outil de choix pour l'exploration de ces DSD, mais sa principale limite est l'impossibilité de détecter des remaniements chromosomiques cryptiques. L'utilisation de l'analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) a permis d'augmenter le niveau de résolution et permet la détection de déséquilibres chromosomiques submicroscopiques dans le cadre des DSD.

Nous décrivons deux patientes présentant une dysgénésie gonadique et une formule chromosomique 46,XY. L'analyse par FISH ciblant le gène SRY était normale dans les deux cas. Une étiologie génétique a finalement été identifiée par CGH-array : une des patientes présentait une microduplication impliquant le gène DAX1 (Xp21.2-Xp21.1, puce à ADN Agilent 105K) et l'autre une microdélétion impliquant en partie la région pseudo-autosomique 1 et le gène SRY (Yp11.32-Yp11.31, puce à ADN Agilent 180K ISCA). Chez cette patiente, le diagnostic n'avait pas pu être fait par FISH en raison des bornes de la sonde utilisée : en effet cette dernière ciblait SRY et la région centromérique attenante alors que

la microdélétion observée concernait SRY et la région télomérique attenante. L'utilisation combinée des techniques de cytogénétique conventionnelle (caryotype) et de cytogénétique moléculaire, notamment l'ACPA, semble justifiée dans l'exploration des DSD afin de rechercher précisément une étiologie génétique et de donner un conseil génétique précis.

**Mots-clefs :** anomalies du développement sexuel, microremaniements, analyse chromosomique par puce à ADN

## CS47/#136

### Paramétrage et validation d'un algorithme d'aide à la classification des CNV au sein du logiciel Cartagenia Bench

Yoann Vial (1), Nathalie Le Meur (2), Florence Chevallier-Helas (3), Géraldine Joly-Helas (1), Pascale Saugier-Veber (4), Bertrand Macé (1), Thierry Frebourg (4), Pascal Chambon (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen, Rouen, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, EFS Normandie, Bois Guillaume, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, CHG du Havre, Le Havre, France
4. Département de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Chambon Pascal (Pascal.chambon@chu-rouen.fr)

En quelques années, les techniques de microarray sont devenues incontournables dans la recherche de variations du nombre de copie (CNV) à l'origine d'un déficit intellectuel ou d'un syndrome malformatif. La grande difficulté de ces analyses ne réside plus dans la détection des CNV, mais dans l'interprétation du caractère pathogène ou polymorphique des CNV détectés. L'accroissement du nombre d'analyses se traduit directement par une augmentation du temps médical d'interprétation qui nécessite la consultation de multiples bases de données de CNV, mais également de la bibliographie sur la fonction ou la structure des gènes présents au sein du remaniement. Les logiciels permettant la détection des CNV se sont rapidement révélés insuffisants et plusieurs équipes se sont attachées à développer des logiciels d'aide à l'interprétation. Le logiciel Bench de la société Cartagenia permet d'accéder rapidement aux informations concernant chacun des CNV détectés. Nous avons paramétré et validé un algorithme permettant au logiciel Bench de proposer une interprétation pour chacun des CNV détectés selon des critères objectifs, ce qui représente un travail considérable, compte tenu du nombre important de patients et de paramètres à tester. Nous avons dans un premier temps formalisé notre processus d'interprétation des CNV. Nous avons ensuite modélisé ce processus dans le logiciel Bench puis optimisé sa spécificité et sa sensibilité à l'aide des 3283 CNV identifiés au sein d'une cohorte de 400 patients ayant bénéficié d'une CGH array (lames Agilent 105K ou 180K) pour un déficit intellectuel ou un syndrome malformatif. L'objectif du paramétrage de cet algorithme était d'une part de ne classer aucun CNV pathogène ou VOUS en tant que CNV polymorphique et d'autre part d'annoter le maximum de CNV. Nous avons ainsi déterminé (i) le nombre et le type de bases de données à consulter, (ii) les critères de comparaison d'un CNV aux CNV d'une base de donnée et (iii) l'ordre des bases de données à consulter. L'étude des 3283 CNV a permis de valider un paramétrage de cet algorithme avec une spécificité de 100% et une sensibilité de 82%. En effet, aucun CNV pathogène ou VOUS (n=309) n'a été classé en tant que CNV polymorphique, plus de 85% des CNV polymorphiques (n=2974) ont été bien annotés et 96% des CNV (n=48) que nous avons considérés comme clairement pathogènes ont été également annotés de façon pertinente. Cet algorithme procure aussi des informations (absence de gène Refseq, présence de gènes soumis à haploinsuffisance, impliqués en pathologie humaine...) pour 50% des CNV que nous avons considérés comme VOUS (n=261). L'utilisation d'algorithmes

d'aide à l'interprétation des CNV est encore peu répandue, notamment en raison des difficultés de paramétrage et de validation. Nous rapportons ici la création d'un algorithme robuste, mais également la démarche permettant de valider les mises à jour de ce filtre en fonction de l'évolution des bases de données disponibles.

**Mots-clefs** : Cartagenia Bench,, CNV, Algorithme, aide à l'interprétation

## CS48/#773

### Chromatin loops and CNVs: the complex spatial organization of the 16p11.2 locus

Maria Nicla Loviglio (1), Jacques S. Beckmann (2,3), Marion Leleu (4), Nele Ghedolf (1), Eugenia Migliavacca (1), Katrin Mannik (1), 16p11.2 European Consortium, Sébastien Jacquemont (3), Jacques Rougemont (2,4), Alexandre Reymond (1)

1. Center for Integrative Genomics, University of Lausanne, Lausanne, Suisse
2. Swiss Institute of Bioinformatics, Lausanne, Suisse
3. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse
4. EPFL, EPFL, Lausanne, Suisse

**Auteur correspondant** : Reymond Alexandre (alexandre.reymond@unil.ch)

Hemizyosity of the 16p11.2 ~600 kb BP4-BP5 region (29.5 to 30.1Mb) is one of the most frequent known genetic etiology of autism spectrum disorder (ASD). It is also associated with a highly penetrant form of obesity and a significant increase in head circumference. Mirror phenotypes are observed in carriers of the reciprocal duplication, who present a high risk of being underweight, microcephalic and/or schizophrenic. The just distal 16p11.2 220 kb BP2-BP3 deletion is similarly associated with obesity and neuropsychiatric disorders. We assessed possible chromatin interplays between these regions via long-range acting regulatory elements using high-resolution Chromosome Conformation Capture Sequencing (4C-seq) technology. We compared the three dimensional organization at the 16p11.2 locus between normal copy number and 600kb deletion or duplication state using the promoters of the SH2B1, MVP, KCTD13, ALDOA, TBX6 and MAPK3 genes as "viewpoints". The analysis of normal copy number samples highlights complex chromatin looping between genes located in the 600kb and 220kb regions. In particular, blocks of regulators in chromosomal context of the 5 viewpoints from the 600kb interval encompass the genes CD19, LAT, RABEP2, TUFM and SH2B1, whose polymorphisms and mutations were previously associated with BMI, serum leptin, body fat and maladaptive behaviors and obesity. This interaction was reciprocally confirmed using SH2B1 as a viewpoint.

To gauge whether the presence of a rearrangement alters any of the identified chromatin interactions along chromosome 16, we compared interaction profile signals of deletion and duplication of the 600kb BP4-BP5 region and controls. Considering all viewpoints we identified 342 and 378 regions whose looping intensities are significantly modified in deleted and duplicated samples, respectively. In parallel, we profiled the transcriptome of lymphoblastoid cell lines of 50 600kb BP4-BP5 deletion, 32 reciprocal duplication and 29 control individuals and identified 1188 differentially expressed (DE) genes using a numerical variable to reflect a dosage effect. 27 of the 74 DE genes (36.5%) mapping on chromosome 16 show concomitant significant changes in chromatin interaction. Our results show that relevant chromatin conformation changes may arise from copy number variants. They suggest a link between the observed chromatin perturbations and gene expression and a possible contribution of the chromosome conformation to the disease phenotype.

**Mots-clefs** : 16p11.2, chromatin, transcriptome

## Innovations technologiques

### CS49/#257

### Dépistage précoce de la dysplasie ectodermique anhidrotique liée à l'X grâce à l'analyse de photographies de patients

Smail Hadj-Rabia (1), Kenneth M Huttner (2), Leonid Karlinsky (3), Lior Wolf (3,4), Mordechai Shohat (3,4,5), Dorothy Grange (6), Ophir Klein (7), Holm Schneider (8), Encarna Guillén Navarro (9), Lina Basel-Vanagaite (3,4,5), Christine Bodemer (1)

- 1- Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
- 2- Edimer Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, USA
- 3- FDNA Ltd., Herzlyia, Israël
- 4- Tel Aviv University, Tel Aviv, Israël
- 5- Schneider Children's Medical Center of Israel, Raphael Recanati Genetics Institute, Rabin Medical Ctr and and Felsenstein Medical Research Center, Petah Tikva, Israel
- 6- Washington University in St. Louis, St. Louis, MO, USA
- 7- University of California San Francisco, San Francisco, CA, USA
- 8- University of Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Germany
- 9- Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, Spain

**Auteur correspondant** : Hadj-Rabia Smail (smail.hadj@inserm.fr)

La dysplasie ectodermique anhidrotique liée au chromosome X (DEAX) est caractérisée par une hypotrichose, une hypohidrose et une oligodontie. Elle résulte de mutations du gène *EDA1*. Le diagnostic néonatal est difficile mais important compte tenu du risque d'épisodes hyperthermiques. L'ectodysplasine, produit du gène *EDA1*, est impliquée dans la morphogenèse faciale : hypoplasie du maxillaire supérieur et prognathisme fréquents. Nous montrons que l'utilisation d'un logiciel (FDNA®) d'analyse des photos permet le dépistage précoce de nouveau-nés atteints. Patients et Méthodes

Les photographies, face et profil, de garçons DEAX, identifiés sur le plan moléculaire ont été analysées : 27 nouveau-nés, âge 1-10 ans (n=64), âge ≥ 11 ans (n =42). Pour chaque groupe 33, 64 et 42 témoins ont respectivement été inclus. 130 points faciaux et la morphologie faciale globale ont été évalués.

#### Résultats

Cette étude, preuve de concept, montre le pouvoir statistique de l'identification des patients DEAX grâce à des photographies. L'aire moyenne sous la courbe ROC est de 96% pour les patients ≥ 11 ans, 97% pour les enfants de 1 à 10 ans et 99% pour les nouveau-nés. Quelque soit l'âge, la spécificité est de 99% et la sensibilité de 90%.

#### Discussion

L'utilisation de photographies analysées de manière standardisée, permet le diagnostic néonatal de DEAX avant l'apparition des complications. La mise en place de la phase pilote d'une thérapie de substitution protéique néonatale est en cours. Les outils de diagnostic clinique précoce et rapide ont un intérêt majeur, le modèle animal montrant l'intérêt d'une thérapie substitutive introduite dès les premiers jours de vie.

**Mots-clefs** : Dysplasie ectodermique anhidrotique, photographies, Informatique



**CS50/#217**

**Anticorps de la Gigaxonine: un nouvel outil dans le diagnostic moléculaire des neuropathies héréditaires sensibles et motrices de type 2**

Pascale Bomont (1), Alexia Boizot (1), Yasmina Talmat-Amar (1), Deborah Morrogh (2), Nancy L. Kuntz (3), Cecile Halbert (4), Brigitte Chabrol (4), Henry Houlden (5), Tanya Stojkovic (6), Brenda A. Schulman (7), Bernd Rautenstrauss (8)

1. Avenir-Atip team, INSERM U1051-INM, Montpellier, France
2. Great Ormond Street Hospital, Londres, Royaume-Uni
3. Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, USA
4. Service de Neurologie Pédiatrique, Hopital d'Enfants, CHU la Timone, Marseille, France
5. MRC center for Neuromuscular diseases, Londres, Royaume-Uni
6. AP-HP, G-H Pitié-Salpêtrière, Institut de Myologie, Paris, France
7. Howard Hughes Medical Institute, St Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA
8. Medizinisch Genetisches Zentrum, Friedrich-Baur-Institut, Munich, Allemagne

**Auteur correspondant :** Bomont Pascale (pascale.bomont@inserm.fr)

Avec une prévalence estimée à 1/2500, les neuropathies périphériques héréditaires ou maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) représentent le groupe le plus fréquent des maladies neuromusculaires. Traditionnellement divisé entre les formes démyélinisantes (CMT1) et axonales (CMT2), l'identification d'un nombre croissant de gènes mutés a conduit à une nouvelle classification fonctionnelle et souligne la grande hétérogénéité clinique et génétique de ce groupe de maladies. En effet, plus de 15 gènes distincts ont été identifiés pour les CMT2 et lorsque les plus fréquents ont été exclus, il est très difficile d'obtenir un diagnostic différentiel. Ainsi, disposer d'outils spécifiques représente un enjeu majeur en clinique, essentiel pour le diagnostic mais aussi pour le conseil génétique et la prise en charge des patients. Notre étude porte sur le transfert en clinique d'un nouveau test diagnostique pour la Neuropathie à Axones Géants (NAG), une forme précoce et récessive de CMT2 et sur l'identification des mécanismes pathologiques dans NAG.

Afin de contourner les limitations des méthodes diagnostiques actuelles, ne permettant pas d'identifier les mutations hors séquences codantes et les larges délétions, nous avons développé une nouvelle méthodologie pour englober tous les patients, quelles que soient leurs mutations. En utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques contre la protéine mutée dans NAG dans des tests d'immunodétection sur lymphoblastes issus de prélèvements sanguins, nous avons tout d'abord déterminé le niveau résiduel moyen de gigaxonines mutées dans dix familles NAG avec mutations connues. Nous avons ensuite démontré la valeur diagnostique de ce test sur une nouvelle cohorte de sept patients atteints de CMT2. En effet, nous avons montré que seuls les patients avec niveaux faibles de gigaxonine portent des mutations dans le gène NAG, et qu'inversement, les patients avec des niveaux normaux ne sont pas liés à NAG. Enfin, nous avons étudié les transcrits NAG et les protéines chez les patients, généré le premier modèle structural de la gigaxonine pour identifier des mécanismes d'instabilité des ARNm mais aussi des protéines dans NAG.

En conclusion, nos données démontrent que notre nouvelle méthode d'immunodétection de la gigaxonine constitue un nouveau test diagnostique spécifique, pénétrant, suffisant et rentable. Cette méthodologie peut être transférée en clinique pour faciliter le diagnostic de NAG et plus généralement des CMT2 mais pourrait aussi permettre d'identifier les variants NAG pathogéniques issus d'approches de séquençage à haut débit. De plus, nous avons combiné de la modélisation prédictive de la gigaxonine avec des tests expérimentaux pour identifier l'instabilité comme le mécanisme général impliqué dans NAG.

**Mots-clefs :** Charcot Marie Tooth de type 2, Neuropathie à Axones Géants, immuno-diagnostic de la gigaxonine

**CS51/#314**

**Qualité du diagnostic moléculaire des maladies génétiques: de la nécessité d'une démarche d'amélioration continue**

Simon Patton  
European Molecular Genetics Quality Network (EMQN), St Mary's Hospital, Manchester, Royaume-Uni

**Auteur correspondant :** ROUX Anne-Francoise (anne-francoise.roux@inserm.fr)

Face à la rapidité des évolutions dans le domaine de la génétique moléculaire et la complexité des résultats générés, les cliniciens prescripteurs d'analyses de génétique moléculaire attendent non seulement un génotype complet et précis mais aussi une interprétation appropriée des résultats.

The European Molecular Genetics Quality Network (EMQN) est un organisme qui vise à promouvoir la qualité des tests génétiques à l'échelle internationale en offrant à ses 1300 membres des évaluations externes de la qualité (EEQ). Ces EEQ incluent 40 contrôles de qualité dont 32 ciblés sur des maladies génétiques, 4 sur des pathologies moléculaires, et 4 sur les techniques proprement dites. Le principe pour les laboratoires participant à l'EEQ est de tester des échantillons d'ADN validés (de génotype connu) associés à des cas cliniques fictifs. Les participants doivent traiter ces dossiers exactement comme une analyse standard et envoyer leurs compte-rendus de résultats qui seront évalués de façon anonyme par des assesseurs de l'EMQN. Les contrôles de qualité EMQN permettent non seulement de tester la performance des laboratoires à rendre des génotypes justes mais aussi leur capacité à interpréter les résultats en fonction des questions cliniques posées.

La plupart des résultats de génétique moléculaire sont qualitatifs, l'évaluation de l'exactitude du génotype est donc relativement simple. La sensibilité analytique, les valeurs prédictives positives et négatives d'un test peuvent cependant varier en fonction de la méthode choisie et/ou de l'origine du laboratoire. Les pratiques locales concernant les recommandations relatives à la poursuite de l'analyse ou bien l'implication pour les autres membres de la famille, peuvent évoluer pour répondre à la demande des cliniciens et donc varier d'un pays à l'autre, voire entre laboratoires d'un même pays. L'évaluation d'un compte-rendu d'EEQ EMQN est confrontée aux bonnes pratiques publiées ou consensuelles et est établie par décision concertée de plusieurs experts originaires de différents pays. Un score est ainsi appliqué aux points critiques du compte-rendu. Néanmoins, l'EMQN se concentre sur sa mission pédagogique et conseille les participants de façon non pénalisante sur les points nécessitant une amélioration.

Des exemples et des résultats d'amélioration découlant des activités de l'EMQN seront présentés. Par ailleurs, nous discuterons des nouveaux défis apportés par le NGS pour le diagnostic moléculaire et de la nécessité de développer des contrôles de qualité appropriés.

**Mots-clefs :** EMQN, évaluation externe de la qualité, NGS

## CS52/#154

### Etude de la génotoxicité des chimiothérapies anti-cancéreuses grâce à un nouvel essai fonctionnel de la voie p53

Jean-Michel Flaman (1), Gaëlle Bougeard (2), Flavie Soubigou (1), Yasmine Zerdoumi (1), Thierry Frebourg (2)

1. Inserm U1079, Université de Rouen, ROUEN, France  
2. Inserm U1079 et Service de Génétique, Université de Rouen et CHU de Rouen, ROUEN, France

**Auteur correspondant :** FLAMAN Jean-Michel (jean-michel.flaman@univ-rouen.fr)

Les chimiothérapies anti-cancéreuses non ciblées visent à inhiber la prolifération et la survie des cellules cancéreuses en bloquant la réplication de l'ADN, soit directement par des inhibiteurs de polymérase ou des analogues de nucléotides, soit indirectement par l'induction de lésions de l'ADN bloquant la fourche de réplication. Ces traitements sont par conséquent potentiellement pro-carcinogènes et iatrogènes et sont susceptibles de favoriser l'apparition de tumeurs secondaires, notamment chez les patients porteurs d'altérations constitutionnelles des systèmes de réparation de l'ADN. La voie p53 est activée de façon spécifique en réponse à tout stress génotoxique subi par la cellule, jouant ainsi un rôle majeur dans la prévention du cancer, mais également dans l'efficacité des traitements. Notre équipe a récemment développé un nouvel essai fonctionnel du gène suppresseur de tumeur TP53 dans des lymphocytes humains dans le but de classer les mutations de TP53. Nous avons détourné cet essai pour développer un test universel de génotoxicité basé sur l'induction spécifique de la voie p53. Cet essai simple, rapide et réalisé dans un contexte physiologique, est basé sur l'exposition de lymphocytes de génotype TP53 wt/wt à diverses molécules, puis sur la mesure par RT-QMPSF de l'induction de gènes cibles sélectionnés d'après nos analyses transcriptomiques. La spécificité de cette induction est démontrée par la même expérience réalisée dans des lymphocytes porteurs d'une mutation hétérozygote de TP53 compromettant la réponse aux stress génotoxiques. Nous avons testé, grâce à cet essai, les drogues anti-cancéreuses conventionnelles les plus couramment utilisées en clinique afin de mesurer leur niveau de génotoxicité. Cette analyse révèle que toutes les classes de molécules anti-cancéreuses, à l'exception des poisons du fuseau mitotique, tels les dérivés du taxol ou les vinca-alcaloïdes, activent la voie p53 et sont donc génotoxiques. Ces résultats suggèrent que le taux particulièrement élevé de tumeurs primitives multiples observé chez les patients présentant un syndrome de Li-Fraumeni pourrait être dû, en partie, à l'effet mutagène des chimiothérapies et que les poisons du fuseau mitotique pourraient avoir un intérêt particulier chez ces patients. Ce nouvel essai fonctionnel devrait faciliter l'identification de nouvelles molécules anti-cancéreuses non génotoxiques et donc moins iatrogènes.

**Mots-clefs :** Génotoxicité, Chimiothérapie, TP53

## CS53/#90

### Somaticaller : un logiciel de détection de variations somatiques et post-zygotiques à partir de données de DNA-seq.

Yannis Duffourd (1), Judith St-Onge (2), Jean-Benoît Courcet (3), Laurence Faivre (3), Pierre Vabres (4), Jean-Baptiste Rivière (2)

1. Equipe d'Accueil 4271 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France

2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France

3. FHU-TRANSLAD, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France

4. Service de Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France

**Auteur correspondant :** Duffourd Yannis (yannis.duffourd@u-bourgogne.fr)

La détection de variations génétiques faiblement représentées dans des populations hétérogènes de cellules est nécessaire à l'identification de mutations post-zygotiques ou somatiques associées à des pathologies humaines telles que les anomalies du développement en mosaïque. Bien que la nature digitale du séquençage nouvelle génération permette d'identifier de telles variations, les méthodes bio-informatiques existantes sont en cours de développement et ne permettent généralement pas une détection systématique et sensible, particulièrement des insertions-délétions. De plus, ces outils ont largement été développés dans le cadre de mutations somatiques en oncologie et reposent essentiellement sur l'analyse de paires d'échantillons (tumeur vs tissu sain). Ici, nous présentons Somaticaller, un logiciel dédié à la détection de variations faiblement représentées dans des données de séquençage nouvelle génération d'ADN génomique. Il consiste à parcourir les données de séquençage alignées (fichiers bam) en paire (tissu atteint vs tissu sain) ou en trio (cas index, père et mère) afin de relever de façon systématique les positions présentant des variations génétiques potentielles. Différents critères modulables sont pris en compte, tels qu'un nombre minimal de lectures, un pourcentage et un nombre minimal de lectures supportant l'allèle alternatif, ainsi que les scores de qualité des bases et des lectures analysées. Un test de Fisher exact est alors effectué entre les différents effectifs relevés dans chaque échantillon afin de mesurer l'indépendance des échantillons en regard d'une variation candidate à une position donnée. La seconde partie du logiciel consiste en la vérification de toutes les positions candidates dans une série de contrôles négatifs et la comparaison des ratios alléliques obtenus avec ceux des échantillons de patients par un test de Student afin de différencier les variations ayant un intérêt biologique potentiel des erreurs probables de séquençage ou d'alignement. Appliqué à du séquençage ciblé en profondeur de gènes individuels et à des exomes de patients présentant des anomalies du développement avec atteinte cutanée en mosaïque, cet outil a mené à l'identification de fractions alléliques aussi faibles que 1,5 % à partir du séquençage de gènes responsables de syndromes hypertrophiques, et 3 % dans des données d'exomes de patients atteints d'un nouveau syndrome malformatif en mosaïque. Comparé aux méthodes conventionnelles de détection de variations génétiques germinales (e.g. SAMtools et GATK), Somaticaller présente une sensibilité accrue, particulièrement pour les variations génétiques présentes dans moins de 10% des lectures. Les applications possibles de cet outil sont multiples, autant pour la recherche que pour le diagnostic moléculaire, de la détection de mutations post-zygotiques dans des pathologies en mosaïque à l'identification de mutations somatiques dans des échantillons tumoraux.

**Mots-clefs :** Bioinformatique, Séquençage haut-débit, Recherche de mutations en mosaïque

## CS54/#591

### Caractérisation moléculaire des paraplégies spastiques héréditaires : comparaison des stratégies de séquençage ciblé moyen débit.

Laure Raymond (1), Emeline Mundwiller (2), Christel Depienne (3), Guillaume Banneau (4), Célia Gauthier (5), Sara Morais (6), Cécile Cazeneuve (4), Alexis Brice (7), Eric Leguern (3), Alexandra Durr (7), Yannick Marie (8), Giovanni Stevanin (9)

1. A- Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM/UPMC UMR\_S 975, CNRS 7225, NEB), Paris, France B- Equipe

de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Paris, France D- Fédération de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, ICM, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

2. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

3. A- Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM/UPMC UMR\_S 975, CNRS 7225, NEB), Paris, France D- Fédération de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France, ICM, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

4. D- Fédération de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

5. A- Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM/UPMC UMR\_S 975, CNRS 7225, NEB), Paris, France B- Equipe de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Paris, France, ICM, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

6. A- Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM/UPMC UMR\_S 975, CNRS 7225, NEB), Paris, France B- Equipe de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Paris, France E- UnIGENE, IBMC, Porto, Portugal, ICM, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

7. A- Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM/UPMC UMR\_S 975, CNRS 7225, NEB), Paris, France C- Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France, ICM, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

8. A- Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM/UPMC UMR\_S 975, CNRS 7225, NEB), Paris, France C- Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France, ICM, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

9. A- Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM/UPMC UMR\_S 975, CNRS 7225, NEB), Paris, France B- Equipe de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Paris, France C- Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, P, ICM, Hôpital la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Raymond Laure (laurefloriane@wanadoo.fr)

Les paraplégies spastiques héréditaires (SPG) constituent un groupe de maladies neurodégénératives caractérisées par une spasticité et une faiblesse progressives des membres inférieurs, variablement associées à d'autres signes neurologiques. A ce jour, des mutations ont été décrites dans plus de 70 gènes. Les corrélations génotype-phénotype n'étant pas toujours évidentes, le diagnostic génétique conventionnel est long et coûteux.

Nous avons cherché à développer une stratégie de séquençage ciblé moyen débit permettant l'étude simultanée de 34 gènes SPG. Leurs 532 régions codantes ont été capturées (Roche NimbleGen) puis séquencées sur le GS Junior (Roche) et le MiSeq (Illumina). 45 patients (36 de génotypes inconnus et 9 contrôles positifs) ont été criblés sur 11 expériences, à différents niveaux de multiplexage (1-12). Les données ont été analysées avec le logiciel Genomics Workbench (CLC Bio).

Les données de couverture nous ont permis d'évaluer la qualité de la capture. 98% des lectures s'alignaient sur le génome Hg19, dont 95% sur la cible, témoignant d'une excellente spécificité. Moins de 3% des régions ciblées n'étaient pas capturées. Ces résultats très satisfaisants ont été obtenus dès le premier design. De plus, avons montré une meilleure couverture et un nombre de lectures sur cible plus importants par la réalisation de 2 courtes semi-captures au lieu d'une capture longue unique.

Nous avons recherché un rapport coût/efficacité optimal en multiplexant les patients en pré-capture. Nous avons constaté que la couverture devenait insuffisante au-delà de 3 patients sur le GS Junior. Sur le MiSeq, nous avons pu multiplexer 12 patients, sans atteindre les limites des capacités de l'automate et en conservant une répartition très homogène des lectures entre les échantillons.

GS Junior et MiSeq nous ont permis de détecter 100% des variants connus : SNV, insertions, délétions jusqu'à 29pb, mais aussi inversion d'exon. Une délétion de 3 exons consécutifs a pu être révélée par l'analyse comparative des profondeurs de couverture.

Chez les patients de génotype inconnu, environ 60 SNV et 190 indels ont été retrouvés sur le GS Junior, contre 60SNV et 10indels sur le MiSeq. Ils sont identiques à 2 ou 3 variants près, et les 180 indels supplémentaires du GS Junior ont une qualité faible (

La combinaison d'une double capture et d'un séquençage de qualité permettent de répondre aux exigences de sensibilité, de spécificité et d'efficacité des applications diagnostiques. Un nouveau panel de 75 gènes SPG est en cours de test sur 24 patients multiplexés.

**Mots-clés :** Séquençage ciblé moyen débit, Paraplégies spastiques héréditaires, Comparaison de technologies

**CS55/#491**

## **Criblage systématique du spectre et de la prévalence des variations génétiques touchant les gènes de susceptibilité aux arythmies cardiaques héréditaires**

Solena LE SCOUARNEC (1), Vincent PORTERO (1), Xavier DAUMY (1), Stéphanie BONNAUD (1), Laëtitia DUBOSCQ-BIDOT (1), Raluca TEUSAN (1), Pierre LINDENBAUM (1), Matilde KARAKACHOFF (1), Floriane SIMONET (1), Lise BELLANGER (2), Jean-Baptiste GOURRAUD (3), Frédéric SACHER (4), Julien BARC (5), Stéphanie CHATEL (1), Christian DINA (1), Florence KYNDT (6), Stéphane BEZIEAU (6), Jean-Jacques SCHOTT (1), Vincent PROBST (3), Richard REDON (1)

1. L'institut du thorax, Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291, NANTES, France

2. Laboratoire de Mathématiques Jean Leray, Université de Nantes, CNRS UMR 6629, NANTES, France

3. Service de cardiologie, l'institut du thorax, CHU de Nantes, NANTES, France

4. Centre Cardio-Thoracique, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France

5. Dept. Clinical and Experimental Cardiology, AMC, AMSTERDAM, Pays-bas

6. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, NANTES, France

**Auteur correspondant :** LE SCOUARNEC Solena (solena.lescouarnec@univ-nantes.fr)

Le développement récent de stratégies basées sur les technologies NGS nous donne une opportunité unique de cribler de manière systématique les variations génétiques touchant les gènes précédemment impliqués dans des maladies rares. Nous avons donc conçu un kit de capture HaloPlex™ (Agilent Technologies) dédié au séquençage des régions codantes de 163 gènes potentiellement associés aux arythmies cardiaques héréditaires: 46 gènes liés aux arythmies cardiaques héréditaires; 45 gènes associés à des cardiomyopathies; 72 gènes sélectionnés comme candidats, identifiés notamment par des approches familiales basées sur le séquençage d'exomes complets. Les bibliothèques enrichies par le système HaloPlex ont été séquencées en 2 x 100 pb sur station Illumina (MiSeq ou HiSeq). Les séquences adaptatrices ont été supprimées avec cutadapt, puis les reads ont été alignés sur le génome de référence GRCh37 avec BWA. Les variations génétiques ont été détectées avec les logiciels Samtools et GATK, puis annotées automatiquement avec VEP.

Au total, 570 individus ont été inclus dans cette étude. Afin de valider notre système de criblage, nous avons tout d'abord analysé 42 patients présentant une arythmie cardiaque héréditaire et porteurs de 69 variations génétiques précédemment identifiées par séquençage capillaire. Nous avons obtenu une couverture moyenne des régions cibles de 137X, 80 % des séquences générées correspondant à ces régions. Sur les 69 variations répertoriées, 66 (96%) ont pu être détectées automatiquement. Deux des variations non identifiées sont des délétions de 4 et 7 pb, non détectables avec ces algorithmes, la troisième est une substitution localisée dans une région présentant systématiquement une couverture faible. Suite à cette validation, 361 nouveaux patients ont été analysés (178 patients présentant un syndrome de Brugada; 89 patients avec un syndrome de repolarisation précoce; 94 cas de troubles progressifs de la conduction cardiaque) ainsi que 167 individus âgés de plus de 65 ans et exempts de toute anomalie du rythme et de la conduction cardiaque, inclus comme témoins. Nous avons obtenu une couverture moyenne de 556X pour les régions cibles, avec 97% des séquences couvertes au moins 10 fois. Nous appliquons actuellement des tests statistiques d'enrichissement en variations rares chez les patients par rapport aux témoins, afin d'identifier de nouveaux gènes de susceptibilité à ces troubles du rythme cardiaque.

Notre étude conduira à l'établissement d'un catalogue systématique du spectre et de la prévalence des mutations altérant les gènes de susceptibilité aux formes héréditaires de mort subite cardiaque. La documentation systématique de nos bio-collections par ces données génétiques permettra d'affiner nos critères d'inclusion pour les futures investigations moléculaires entreprises sur ces maladies.



**Mots-clefs :** Séquençage nouvelle génération, Arythmies cardiaques, Variations génétiques rares

**CS56/#640**

## La plateforme de Génétique Translationnelle de l'hôpital Necker-Enfants Malades : Analyse exomique de patients pédiatriques en défaut de diagnostic génétique.

Claude BESMOND (1), Laurence HUBERT (2), Marine BEINAT (3), Arnold MUNNICH (2)

1. INSERM U781, Département de Génétique, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants-Malades, PARIS, France

2. INSERM U781 et Département de Génétique, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France

3. INSERM U781, Département de Génétique, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France

**Auteur correspondant :** BESMOND Claude (claude.besmond@inserm.fr)

Les maladies génétiques rares constituent la première cause de consultations et d'hospitalisation sur le site de l'hôpital Necker – Enfants Malades. La plupart de ces maladies génétiques sont investiguées par les équipes de recherche de l'Institut Imagine de l'IHU Necker. Cependant, un nombre significatif de ces « cas génétiques » qui ont déjà fait l'objet d'un suivi clinique exhaustif ne sont pas pris en compte et restent donc orphelins. C'est le cas pour les patients dont le tableau clinique ne permet pas d'identifier un axe de recherche et donc une équipe concernée par la pathologie ainsi décrite. C'est également le cas pour des patients présentant un tableau clinique pour lesquels les défauts génétiques habituels ou plausibles ont déjà été recherchés sans succès par d'autres équipes de recherche.

Le rôle de la Plateforme de Génétique Translationnelle, créée en 2012, est d'identifier la cause génétique des ces maladies génétiques qui restent non étiquetées. La décision de référer des patients vers la plateforme se fait lors de réunions pluridisciplinaires hebdomadaires incluant les représentants des services de neuropédiatrie, radiopédiatrie, métabolisme, génétique, biologie clinique. Par ailleurs, notre plateforme collabore avec plusieurs services hospitaliers locaux ou extérieurs à l'hôpital Necker-Enfants Malades ne possédant pas pour l'instant de laboratoire propre.

Les ADN sont séquencés à la plateforme de génomique de l'IHU sur Illumina HiSeq 2500 et les données rendues accessibles pour analyse via un interface développé par l'équipe de bioinformatique également in situ. Afin de donner d'avantage de puissance à l'analyse exomique, nous incluons systématiquement les deux parents ainsi qu'un enfant non atteint lorsque cela est possible.

Jusqu'à présent, nous avons analysé 38 familles et un diagnostic génétique conclusif a pu être établi pour 17 d'entre elles (45%).

Tous les modes de transmission ont été retrouvés, y compris un cas de mosaïque germinale. Dans plusieurs cas, le gène identifié était déjà relié à une pathologie clinique connue révélant ainsi une hétérogénéité phénotypique. Dans un cas, la nature du gène en cause a conduit à l'amélioration du test de biologie clinique habituellement pratiqué et devant dorénavant permettre la mise en évidence du défaut moléculaire au niveau protéique.

Dans la population analysée, nous avons identifié 4 nouvelles maladies (10%) pour lesquelles les modes de transmissions sont composites ou de novo.

Dans tous les cas, un retour de résultat est effectué vers les praticiens et les services cliniques concernés. Dans le cas de « nouveaux gènes », les données sont transférées vers une équipe de recherche fondamentale.

**Mots-clefs :** Maladies rares, Analyse exomique, Corrélation génotype-phénotype

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

**CS57/#519**

## Dépistage combiné de la trisomie 21 au 1er trimestre de la grossesse en France : bilan 2009-2012

Brigitte Simon-Bouy (1)

1. Pôle PEGH, Agence de la biomédecine, Saint-Denis la Plaine, France

**Auteur correspondant :** Simon-Bouy Brigitte  
(brigitte.simonbouy@biomedecine.fr)

En application de l'arrêté du 23/06/09, le dépistage de la trisomie 21 combinant l'âge maternel, les marqueurs sériques du 1er trimestre et la mesure de la clarté nucale (CN) a été proposé à toutes les femmes enceintes depuis le 01/01/10. Les femmes enceintes peuvent bénéficier de ce dépistage si elles ont eu une clarté nucale mesurée par un échographiste ayant fait une évaluation de ses pratiques professionnelles et obtenu un numéro d'identification. Elles conservent la possibilité de faire le dépistage au 2ème trimestre seul ou avec mesure de CN (dépistage séquentiel). Un prélèvement invasif est proposé lorsque le risque est supérieur ou égal à 1/250. L'ABM a évalué l'impact de ce dépistage, dont la montée en charge a été rapide, grâce à l'adhésion massive des échographistes. Une 1ère analyse est faite sur la période 2009-2012 en utilisant les rapports d'activité fournis annuellement par les 82 laboratoires de biochimie et les 70 laboratoires de cytogénétique. Environ 1/3 des femmes « à risque » choisit de ne pas faire de prélèvement invasif. La VPP (valeur prédictive positive) est calculée par l'analyse des caryotypes fœtaux des 64% de femmes qui le font. Le taux de détection est la fréquence du diagnostic prénatal de la trisomie 21 parmi les femmes testées par rapport au taux attendu dans la période considérée. En 2ème analyse, l'ABM a recueilli individuellement les données du dépistage au 1er trimestre pour connaître les médianes des MoM des dosages biochimiques et de CN. L'ensemble des résultats sera présenté sous la forme de tableaux. En 2012, 85% des femmes ont choisi de faire un dépistage de la trisomie 21, le test au 1er trimestre a représenté 70% des dépistages. La prévalence du diagnostic invasif a passé de 9,6% des accouchements à 5,2% entre 2009 et 2012 (diminution de 47%). Le taux de détection prénatale de la trisomie 21 est resté élevé de 81% en 2010, 78% en 2011 et 80% en 2012. La VPP est bien plus élevée avec le dépistage du 1er trimestre qu'il faut privilégier (de 8,7% à 10% selon les années) qu'avec celui du 2ème trimestre (1,7 à 1,9%). L'analyse des données individuelles a montré une médiane de MoM de PAPP-A toujours très proche de 1, de beta hCG à 0,94 en 2010 et 2011 et 0,99 en 2012, et de CN de 0,83 en 2010, 0,82 en 2011 et 0,85 en 2012. La mise en place du dépistage combiné de la trisomie 21 a permis de diminuer le nombre de prélèvements invasifs, surtout chez les femmes de 38 ans et plus, tout en conservant un bon niveau de dépistage. L'observation de la MoM de CN inférieure au 1 théorique faisant craindre un défaut de dépistage a incité à l'analyse précise des facteurs de variation des mesures. Le choix libre et éclairé de chaque femme enceinte nécessite que le dépistage de la trisomie 21 soit parfaitement suivi et évalué à l'échelon national, ce qui devra continuer avec la mise en place d'un dépistage par l'analyse de l'ADN fœtal dans le sang maternel.

**Mots-clefs :** trisomie 21, marqueurs sériques maternels, dépistage

## CS58/#717

### Le temps de l'analyse par caryotype en première instance est-il révolu dans le contexte du diagnostic prénatal?

Régen Drouin, Josée Lamoureux, Abila Kékéli Maglo, Chantal Bouffard  
Laboratoire de recherche transdisciplinaire en génétique, médecines et sciences sociales, Service de génétique, Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

**Auteur correspondant :** Drouin Régen (Regen.Drouin@USherbrooke.ca)

Depuis presque 40 ans, le caryotype constitue le test génétique de référence pour un diagnostic prénatal (DPN) par approches invasives (choriocentèse, amniocentèse) dont les risques pour la grossesse varient de 0,25 à 0,5%. Aujourd'hui, des nouvelles techniques de génétique comme le QF-PCR (quantitative fluorescent PCR) et les micropuces risquent de le déclasser. Le QF-PCR est une technique ciblée qui permet de détecter les anomalies chromosomiques de nombre. Il présente plusieurs avantages : faible coût, temps de réponse très rapide, automatisation presque totale. Les micropuces permettent une résolution mille fois supérieure au caryotype (4 à 5 mégabases vs 50 kilobases pour les micropuces à oligo, vs un nucléotide pour les micropuces à SNP). Elles offrent aux femmes enceintes une réponse plus exhaustive quant à la présence d'anomalies chromosomiques cryptiques chez leur fœtus. Une étude multicentrique comparant le caryotype et les micropuces a confirmé le potentiel de ces dernières pour le DPN (Wapner RJ et coll. NEJM 2012). En plus d'avoir détecté toutes les anomalies chromosomiques non équilibrées trouvées par caryotype, elles se sont avérées supérieures lorsque l'indication pour un test invasif était une anomalie échographique. Dans ce cas, environ 6% des fœtus dont le caryotype était normal présentaient une anomalie génétique significative avec les micropuces. De même, pour une indication d'âge maternel avancé ( $\geq 35$  ans) ou d'un risque élevé au dépistage de la trisomie 21 (T21), environ 1,7% des fœtus avec un caryotype normal avaient une anomalie génétique significative à l'analyse par micropuces. Pour les femmes  $\geq 35$  ans, près de 2% des fœtus auront un résultat anormal cliniquement significatif lors de l'analyse par micropuces. Ces nouvelles technologies rendent le caryotype de routine de première instance en prénatal obsolète. D'abord, comme le coût du caryotype et des micropuces est similaire, la résolution extrême des micropuces leur donne un avantage diagnostique considérable. Ensuite, quand un dépistage de la T21 présente un risque élevé, l'utilisation en première instance du QF-PCR représente une approche valable et moins onéreuse. À ces approches, s'ajoute aussi l'arrivée du dépistage ciblé des principales aneuploïdies (T21, T13, T18 et les aneusomies des chromosomes sexuels) par séquençage de nouvelle génération fait à partir de l'ADN fœtal libre dans la circulation maternelle, dont la sensibilité est très élevée. De plus, ces technologies offrent aux femmes enceintes et aux couples la possibilité de choisir entre des informations précises concernant leurs fœtus, obtenue à partir d'une technique ciblée, ou une panoplie d'informations provenant d'une technique pangénomique à très haute résolution. Il faudra s'assurer qu'ils auront les informations nécessaires pour pouvoir faire des choix libres et informés. Les décideurs devront aussi s'assurer que ce transfert technologique soit balisé d'une façon efficace.

**Mots-clés :** Caryotype - Micropuces - QF-PCR, Anomalies chromosomiques, Diagnostic prénatal invasif et non invasif - amniocentèse - choriocentèse

## CS59/#768

### Test génétique non invasif de la trisomie 21 fœtale et autres aneuploïdies: première étude de validation clinique française.

Jean-Marc Costa (1), Alexandra Letourneau (2), Pascale Kleinfinger (1), Isabelle Lacroix (3), Ramdane Mallek (1), Sandrine Moukoury (1), Martine Olivi (1), Alexandra Benachi (2)

1. Génétique Moléculaire, Laboratoire Cerba, Saint-Ouen l'Aumône, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Antoine Bécère, Clamart, France
3. Biologie Spécialisée, Laboratoire Cerba, Saint-Ouen l'Aumône, France

**Auteur correspondant :** Costa Jean-Marc (jmcosta@lab-cerba.com)

Depuis les premières preuves de concept rapportées en 2008, le diagnostic de trisomie 21 fœtale est devenu possible à partir d'une prise de sang faite chez la mère grâce à l'analyse de l'ADN fœtal circulant par séquençage massif en parallèle afin d'évaluer la proportion relative de chacun des chromosomes 13, 18, 21 et mettre en évidence un excès de matériel chromosomique lorsque le fœtus est porteur d'une aneuploïdie. Ce test nécessite une méthode d'analyse puissante, le séquençage à très haut débit (NGS) combinée à une importante capacité de calcul (pipeline informatique) pour analyser plusieurs millions de molécules d'ADN, en mesurer la proportion relative et déterminer s'il y a ou non surreprésentation statistiquement significative.

Nous présentons ici, les résultats de 2 études multicentriques de validation analytique et de validation clinique du test entièrement réalisées au sein d'un laboratoire de diagnostic prénatal autorisé et accrédité, depuis la collection de l'échantillon biologique jusqu'à l'analyse bio-informatique des données et leur interprétation.

La phase de validation analytique a porté sur l'analyse de 356 échantillons provenant de 193 patientes (âge moyen : 36 ans, range : 24-50) ayant recours à un diagnostic prénatal pour recherche d'anomalie chromosomique par établissement du caryotype fœtal conventionnel après biopsie de villosités chorales (n=110) ou amniocentèse (n=83). Les échantillons sanguins ont été collectés soit avant geste invasif, soit après à distance (terme médian : 13SA, range : 11-31) et acheminés au laboratoire sous 2 jours en moyenne (range : 1 à 10). Les patientes ont été incluses soit en raison d'un diagnostic connu d'aneuploïdie chez le fœtus, soit en raison de leur appartenance à un groupe à risque élevé d'anomalie chromosomique (clarté nucale isolée : 50, signe l'appel échographique autre : 42, marqueurs sériques à risque : 81, autres : 20). Après extraction de l'ADN plasmatique, le séquençage a été réalisé sur séquenceur Illumina HiSeq1500 et l'analyse bio-informatique effectuée selon la méthode décrite par TJ Jensen (Plosone, 2013 ;8 :1-8.). Les résultats des caryotypes n'étaient pas connus des personnes effectuant les analyses. Pour 18 échantillons (5%), les données obtenues ne répondaient pas de façon suffisante aux critères qualités pour être exploitables. Pour les autres (n=356), le test génétique a pu mettre en évidence une trisomie 21 (n=74), une trisomie 18 (n=10) et une trisomie 13 (n=9) ; tous les résultats sont concordants avec le résultat du caryotype fœtal, soit une sensibilité et une spécificité de 100%.

L'ensemble des résultats de l'étude de validation clinique, étude multicentrique non interventionnelle portant sur plus de 900 patientes à risque seront détaillés. Les limites du test et les conséquences sur les indications seront précisées.

**Mots-clés :** Diagnostic prénatal non invasif, ADN fœtal circulant, Trisomie 21

CS60/#392

## La PCR digitale comme alternative au NGS dans le diagnostic prénatal non invasif des aneuploïdies fœtales : chimère ou réalité ?

Laïla El Khattabi (1), Rokia Bhourri (2), Christelle Rouillac-Le Scieillour (3), Aurélie Coussemont (2), Valérie Sérazin (4), Raphael Porcher (5), Dominique Le Tessier (2), Armelle Luscan (2), Delphine Fauvert (3), Vassilis Tsatsaris (6), Patrick Rozenberg (7), Jean-Michel Dupont (1), François Vialard (4)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin-Maternité Port-Royal, AP-HP, INSERM, U1016, Institut Cochin, CNRS UMR8104, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin-Maternité Port-Royal, AP-HP, Paris, France
3. Fédération de Génétique, CHI de Poissy St Germain, France
4. Fédération de Génétique, CHI de Poissy St Germain, Faculté des Sciences de la Santé, UVSQ, Versailles, France
5. Centre d'Epidémiologie Clinique, Hôtel Dieu, Paris, France
6. Département d'Obstétrique et de Gynécologie, Hôpital Cochin-Maternité Port-Royal, Université Paris Descartes, Paris, France
7. Département d'Obstétrique et de Gynécologie, CHI de Poissy St Germain, France

**Auteur correspondant :** El Khattabi Laïla (laila.el-khattabi@inserm.fr)

Le diagnostic prénatal des anomalies génétiques connaît aujourd'hui une vraie révolution grâce à la découverte de l'ADN fœtal circulant (ADNfc) et aux progrès technologiques des dernières années. Des avancées considérables ont pu être réalisées dans le domaine du diagnostic non invasif ou plutôt du dépistage avancé (DPNIa) des aneuploïdies fœtales à partir de l'ADN circulant, concrétisant ainsi ce qui semblait être une gageure. Un test commercial est aujourd'hui disponible dans certains pays, basé sur le séquençage nouvelle génération (NGS). A ce jour, cette technologie est la seule à avoir fait preuve de sa capacité à permettre un DPNIa de la trisomie 21 avec une bonne sensibilité et spécificité. Néanmoins, la généralisation de son utilisation est limitée par un certain nombre de problématiques socio-économiques et éthiques liées à la complexité de la technique et aux difficultés d'interprétation de variants génétiques de signification peu ou pas connue, qui seront découverts fortuitement. De plus, la performance réelle en population générale de cette approche reste encore à déterminer.

Une deuxième technique de comptage moléculaire est apparue à la fin des années 90s : la PCR digitale. Cependant, elle n'a pour le moment pas pu être appliquée au DPNI des aneuploïdies fœtales en raison du nombre important de réactions de PCR nécessaires pour pouvoir mettre en évidence le petit excès de molécules provenant du chromosome en trisomie. L'apparition de la droplet digital PCR qui autorise la réalisation de plusieurs milliers de réactions différentes dans un seul tube ouvre la possibilité d'utiliser cette approche pour le DPNI des aneuploïdies fœtales.

Nous avons débuté une étude de faisabilité destinée à valider la pertinence de cette approche comme alternative au NGS, et avons montré que la sensibilité de la technique permet effectivement de détecter une trisomie dans un mélange de 95% d'ADN euploïde et 5% d'ADN trisomique pour le chromosome 21. A partir de ces premiers résultats, nous avons optimisé 2 étapes essentielles de cette technique afin de pouvoir valider cette approche : l'extraction de l'ADN circulant, la PCR en elle-même et nous présentons les premiers résultats à partir d'échantillons d'ADN plasmatique issus de femmes enceintes.

**Mots-clefs :** diagnostic prénatal non invasif, trisomie 21, PCR digitale

CS61/#641

## Données prénatales du syndrome Cardio-Facio-Cutané

Ludvine Templin (1), Clarisse Baumann (2), Tiffany Busa (3), Nathalie Pouvreau (2), Annick Toutain (4), Helene Cave (5), Nicole Philip (6), Sabine Sigaudy (7)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
2. Département de Génétique Médicale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Centre de Référence Anomalies du Développement et Unité de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
4. service de Génétique clinique, Hopital Bretonneau, Tours, France
5. Département de génétique médicale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Centre de référence Anomalies du Développement et Unité de génétique clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France
7. Centre de Référence Anomalies du Développement et Unité de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Sigaudy Sabine (sabine.sigaudy@ap-hm.fr)

Le syndrome cardio-facio-cutané (CFC) est caractérisé par une déficience intellectuelle associée à un spectre malformatif variable. Il a été rattaché à des mutations dominantes de novo dans des gènes impliqués dans la voie des RAS-MAP Kinase. Peu de données sont disponibles sur le phénotype prénatal.

**Objectif** – Il s'agit d'un travail rétrospectif consistant à décrire les données prénatales d'enfants atteints du syndrome CFC, afin de voir s'il est possible d'évoquer le diagnostic in utero en l'absence d'antécédents familiaux.

**Méthodes** – Les caractéristiques prénatales ont été d'une part extraites de la base de données du laboratoire français de diagnostic des pathologies de la voie RAS/MAPK (Hôpital Robert Debré, Paris) et d'autre part recueillies auprès des familles contactées par l'intermédiaire de l'association française du syndrome Costello-CFC. Les données recueillies concernaient la grossesse : résultats du dépistage sérique et de l'amniocentèse le cas échéant, mesure de la clarté nucale, biométries des échographies de suivi [périmètre crânien (PC), diamètre bipariétal (BIP), périmètre abdominal (PA), longueur fémorale (LF), estimation de poids fœtal (EPF)], anomalie morphologique ou de liquide amniotique. Des données post-natales (terme, poids, taille et périmètre crânien de naissance) et moléculaires ont également été recueillies.

**Résultats** – Les données prénatales de 69 patients présentant une mutation dans le gène BRAF ont été extraites de la base de données du laboratoire. Une augmentation de la clarté nucale était présente dans 13% des grossesses (9/69), un hydramnios dans 52% des cas (36/69), une macrosomie et/ou macrocéphalie dans 16% des cas (11/69). Les données de surveillance de grossesse de 11 dossiers ont pu être exploitées grâce à la participation de 21 familles. Ces données concernaient 8 garçons et 3 filles, âgés en moyenne de 7 ans (2 à 19 ans), tous porteurs d'une mutation du gène BRAF.

Les mesures du PC, BIP et PA étaient respectivement supérieures au 90<sup>ème</sup> percentile dans 77% (7/9), 80% (8/10) et 77% (7/9) des cas. Une macrosomie (EPF supérieure au 90<sup>ème</sup> percentile) était retrouvée dans 62% (5/8) des cas. Contrastant avec cette macrosomie, la mesure de la longueur fémorale était inférieure au 10<sup>ème</sup> percentile dans 36% des cas (4/11). Une anomalie rénale ou une dilatation pyelo-calicielle était retrouvée dans 45% des cas (5/11), un hydramnios dans 63% (7/11).

**Conclusion** – La présentation prénatale du syndrome CFC est le plus souvent caractérisée par un hydramnios avec macrosomie. Dans ce contexte peu spécifique, l'existence d'un raccourcissement paradoxal du fémur et d'une dilatation pyélocalicielle peut orienter vers le diagnostic. Cependant, contrairement au syndrome de Costello dont le diagnostic moléculaire est rapide et simple, l'hétérogénéité génétique du syndrome CFC est peu compatible avec la réalisation d'une analyse moléculaire en urgence au cours de la grossesse.

**Mots-clefs :** cardiofaciocutané, RAS Mapkinase, macrosomie foetal



## CS62/#419

### Diagnostic prénatal non invasif de la mucoviscidose par MEMO-PCR en temps réel et contrôle de qualité de la présence d'ADN fœtal circulant dans le sang maternel

Vanessa DEBANT (1), Claire GUISSART (1), Corinne BAREIL (1), Caroline RAYNAL (2), Philippe KHAU VAN KIEN (3), Cécile ROUZIER (4), Caroline TOGA (5), Michel KOENIG (2), Mireille CLAUSTRES (2), Marie Claire VINCENT (6)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Chromosomique, IURC - CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Chromosomique - INSERM U827, IURC - CHU Montpellier, Montpellier, France
3. Service de Génétique, Laboratoire de cytologie clinique et génétique, CHU Nîmes, Nîmes, France
4. Service Génétique Médicale, Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Nice, Nice, France
5. CPDPN, Consultation de génétique, AP\_HM, Hôpitaux Nord, Marseille, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Chromosomique - INSERM U827, IURC - CHU Montpellier, M, France

**Auteur correspondant :** VINCENT Marie Claire (marie-claire.vincent@inserm.fr)

Depuis quelques années, l'analyse de l'ADN fœtal libre circulant (cff-DNA) dans le sang maternel, fait partie intégrante des outils de diagnostic prénatal (détermination du sexe fœtal, génotypage rhésus D ...). Ce diagnostic prénatal non invasif (DPNI) trouve de nouvelles applications dans les maladies monogéniques, tout en restant techniquement difficile.

Nous proposons, en prenant pour modèle la mucoviscidose, une nouvelle approche basée sur la MEMO (Mutant Enrichment with 3' Modified Oligonucleotide-PCR) couplée avec une PCR en temps réel (Lee et al 2011). Cette étude consiste à la recherche de l'allèle paternel hérité par le fœtus dans des familles présentant une hétérozygotie composite au niveau du gène CFTR. De plus, nous avons en parallèle évalué un kit commercial de miniSTR, comme contrôle qualité, afin de confirmer la présence de cff-DNA dans le sang maternel analysé.

La validation analytique de la technique MEMO-PCR (sensibilité, spécificité, seuil de détection...) a été effectuée sur des échantillons témoins d'ADN chimères, créés artificiellement pour imiter le plasma maternel (soit 0, 2, 5, 10, 50 et 100% d'ADN mutant à une concentration finale de 100 pg/µl). Cette étape a été suivie d'une validation clinique par étude rétrospective de plasmas maternels de femmes enceintes, ayant fait l'objet d'une demande de DPN de mucoviscidose au laboratoire.

L'évaluation du kit de miniSTR (kit de 8 marqueurs, initialement dédié à l'identification de profils d'ADN dégradés et mélangés en médecine légale) a été réalisée sur 48 sérums et 12 plasmas maternels de femmes enceintes, arrivés au laboratoire pour différentes indications.

Les premiers résultats du développement d'un test MEMO-PCR pour le variant p.Gly542\*, mutation française commune du gène CFTR, atteste que notre approche est rapide, simple et efficace. Elle ne nécessite ni matériel coûteux, ni analyse bioinformatique complexe. Le développement d'un test à façon pour une mutation privée d'épissage du gène CFTR a démontré la viabilité de cette approche DPN en milieu clinique pour le diagnostic d'une mutation paternelle.

Un profil tri-allélique sur plusieurs marqueurs, attestant de la présence d'un mélange d'ADN dans l'échantillon testé, avec une sensibilité suffisante pour différencier les allèles maternels majoritaires de l'allèle paternel minoritaire, a été obtenu chez 83% des plasmas (71 % dans le cadre de fœtus féminins), contre seulement 42 % des sérums maternels étudiés. Les sérums présentent des profils électrophorétiques de mauvaise qualité, difficiles à lire (bruits de fond, artefacts techniques....).

La maîtrise de cette nouvelle approche permet le développement de nouveaux tests de DPN, pour d'autres maladies monogéniques,

selon un système similaire à celui de la prise en charge des demandes de DPI, avec un contrôle qualité validé sur plasmas maternels uniquement.

**Mots-clés :** diagnostic prénatal non invasif, recherche de l'allèle paternel muté du gène CFTR par MEMO-PCR, contrôle de la présence de cffDNA

## CS63/#331

### Le diagnostic préimplantatoire avec typage HLA : une procédure lourde pour de faibles chances de succès.

Philippe BURLET (1), NORA BRAHIMI (2), Roxana BORGHESE (1), Nadine GIGAREL (1), Stéphanie GOBIN-LIMBALLE (2), Laetitia HESTERS (3), René FRYDMAN (1), Arnold MUNNICH (1), Jean-Paul BONNEFONT (1), Alexandra BENACHI (4), Nelly FRYDMAN (5), Sophie MONNOT (1), Julie STEFFANN (1)

1. Service de génétique et unité INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. service de génétique et unité INSERM U781, hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
3. Service de Biologie et Génétique de la Reproduction, hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France
4. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France
5. Service de Biologie et Génétique de la Reproduction, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France

**Auteur correspondant :** BURLET Philippe (philippe.burlet@inserm.fr)

La naissance du premier enfant après un diagnostic préimplantatoire (DPI) avec génotypage HLA (double DPI) en 2001 à Chicago, puis en 2011 en France, offre de nouvelles perspectives de traitement pour les couples dont un premier enfant est atteint d'une maladie génétique grave et incurable, et dont le pronostic peut être significativement amélioré par une greffe de cellules souches hématopoïétiques. Le centre de DPI parisien a constitué 39 dossiers de demande d'autorisation qui ont été adressés à l'Agence de la Biomédecine. Parmi ces dossiers, les demandes concernaient des couples à risque de transmettre une drépanocytose, une bêta-thalassémie ou une granulomatose septique chronique. Durant les 6 dernières années, 27 couples ont été pris en charge, et 43 stimulations ont été débutées. Un double DPI a été réalisé pour 180 embryons, dont 82 étaient indemnes de la maladie et 16 étaient compatibles. Notre expérience montre donc un nombre plus faible d'embryons « indemnes » observé 45% qu'attendu (75%), et les embryons remplissant les 2 conditions sont aussi plus rares 8% que les 18% attendus. L'explication de cette différence est attribuée à des phénomènes d'« allèle drop-out » inhérents à la PCR sur cellule unique, de recombinaisons génétiques survenant sur le bras court du chromosome 6 où sont regroupés les gènes codant pour le HLA (4% des cas), mais aussi à d'autres anomalies comme des aneuploïdies du chromosome 6 dans les cellules embryonnaires (trisomie 6 dans 2% des embryons, monosomie dans 4%), et de rares cas de disomie uniparentale. Dans notre série, 12 couples n'ont pas eu de transfert embryonnaire. Parmi les 22 transferts embryonnaires, 13 n'ont concerné que des embryons qui n'étaient pas compatibles, mais pour 9 transferts, au moins l'un des embryons transféré était compatible. Ces 22 transferts embryonnaires ont mené à 8 grossesses, dont trois n'ont pas évolué (fausse couche spontanée), quatre ont donné naissance à un enfant qui n'est pas compatible, et un a permis la naissance d'un enfant compatible et la greffe d'une sœur atteinte. Finalement, les couples ramènent un bébé à la maison dans 18 % des cas (5/27), mais dans seulement 4% (1/27), cela aboutira à un succès thérapeutique. Cette procédure est particulièrement lourde sur le plan administratif (un dossier de demande d'autorisation doit être constitué pour chaque couple), sur le plan moléculaire (deux diagnostics sont réalisés en parallèle sur chaque cellule, avec pour couvrir la région HLA, un minimum de 10 marqueurs génétiques requis), et sur le plan éthique, puisque la

notion de compatibilité n'est pas prise en compte dans le critère de choix de l'embryon, dans la mesure où tous les embryons doivent au final faire l'objet d'un transfert. Le drame quotidien que vivent ces familles ne doit pas faire oublier la lourdeur de la procédure et ses faibles chances de succès.

**Mots-clefs :** diagnostic préimplantatoire, typage HLA, compatibilité, embryon

## CS64/#688

### Étude comparative des perceptions des obstétricien(ne)s-gynécologues, généticien(ne)s et conseiller(ère)s en génétique impliqué(e)s dans le diagnostic préimplantatoire au Québec

Frédérique Duplain-Laferrère (1), Régen Drouin (1), Chantal Bouffard (1)  
1. Laboratoire de recherche transdisciplinaire en génétique, médecines et sciences sociales, Service génétique, Dép. pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

**Auteur correspondant :** Bouffard Chantal (chantal.bouffard@icloud.com)

Depuis 2010, le système de santé québécois couvre le diagnostic préimplantatoire (DPI) pour les maladies génétiques graves. À ce jour, les ressources et les infrastructures publiques sont encore incapables de répondre à une demande grandissante. Cette régulation minimale et peu explicite, autant pour les indications médicales que pour la pratique, crée chez les professionnel(le)s de la santé des problèmes décisionnels, organisationnels et éthiques de taille.

Objectifs: Afin d'identifier les problèmes et de mieux comprendre la situation, nous avons consulté les généticien(ne)s, obstétricien(ne)s-gynécologues et conseiller(ère)s en génétique québécois(e)s pour: 1) comparer leurs perceptions des conditions de développement, de prestation et de gouvernance du DPI, 2) identifier les consensus et les divergences concernant ses usages médicaux et sociaux et 3) connaître leurs propositions en regard de sa régulation.

Méthodologie: Devis qualitatif - Questionnaire en ligne (34 questions : 13 ouvertes, 11 semi-ouvertes, 10 fermées). Plusieurs professionnel(e)s de chaque discipline ont répondu au questionnaire : 15/30 généticien(ne)s, 17/30 conseiller(ère)s en génétique, 15/40 obstétricien(ne)s. Analyse inductive générale assistée du logiciel NVivo10.

Résultats: Dans l'ensemble, les participant(e)s sont favorables à une plus grande régulation et standardisation du DPI (cliniques et laboratoire) et ils souhaitent qu'il soit plus accessible. Pour eux, les maladies multifactorielles et les usages sociaux devraient être proscrits et son utilisation restreinte aux maladies létales ou invalidantes. Enfin, ils proposent qu'une table de concertation interprovinciale se penche sur la régulation et les conditions de prestation du DPI à la grandeur du Canada et que les pouvoirs décisionnels des patient(e)s soient limités. Il existe cependant des différences disciplinaires significatives pour ce qui a trait aux pathologies qui justifieraient le recours au DPI. Par exemple, les obstétricien(ne)s-gynécologues sont moins restrictif(ve)s quant aux usages médicaux du DPI, les généticien(ne)s plus conservateur(trice)s et les conseiller(ère)s en génétique plus orienté(e)s vers les besoins des patient(e)s.

Conclusion: Ce projet a permis de développer des connaissances inédites sur les perceptions des généticien(ne)s, des obstétricien(ne)s-gynécologues et des conseiller(ère)s en génétique au Québec. Cependant, les résultats obtenus suscitent plusieurs interrogations : les hommes et les femmes qui souhaitent recourir au DPI sont-ils réellement égaux dans l'accès au DPI? Devrions-nous préciser davantage le concept de maladies génétiques graves afin d'avoir des lignes directrices plus explicites? Est-ce que le système de santé Québécois a pris une décision trop

hâtive concernant la couverture des frais reliés au DPI? Quelles seraient les mesures à prendre pour améliorer les services ? Doit-on limiter l'autonomie décisionnelle des patients ?

**Mots-clefs :** Diagnostic préimplantatoire, Maladies génétiques graves, Procréation assistée

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

### CS65/#187

#### A New Mouse Model for Costello Syndrome

Monika Jagla (1), Tania Sorg (1), Benoit Arveiler (2), Marie-Christine Birling (1), Marie-France Champy (1), François Dupuy (2), Isabelle Goncalves (1), Hugues Jacobs (1), Hamid Meziane (1), Guillaume Pavlovic (1), Nicole Philip (4), François Radvanyi (5), Sabine Sigaudy (4), Rodrigue Rossignol (2), Michel Roux (1), Didier Lacombe (3), Yann Hérault (1)  
1. ICS, PHENOMIN, ICS-MCI, CNRS, INSERM, Université de Strasbourg, Illkirch, France  
2. Génétique, CHU Bordeaux, Université Bordeaux, Bordeaux, France  
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France  
4. Génétique, AP-HM, Marseille, France  
5. Institut Curie, Institut Curie, Paris, France

**Auteur correspondant :** Jagla Monika (jaglae@igbmc.fr)

Costello Syndrome (CS) is a distinctive rare multisystem disorder (OMIM#218040) (Costello, 1971; Costello, 1977) comprising characteristic prenatally increased growth retardation, coarse facial features, redundant skin with deep palmar, plantar creases and papillomata of later onset. CS patients present also laxity of small joints, tight Achilles tendons, cardiac malformations, and developmental delay. The primary cause of CS was associated to the germ line activation of H-Ras oncogene. Indeed approximately 80% of patients with a molecular diagnosis present the common missense mutation G12S in the H-Ras gene (Viskochil DH et al, 2011). The identification of the defect responsible for the CS allows the confirmation of the clinical and prenatal diagnosis by molecular techniques in suspected cases. Here we describe the generation and the consequent phenotypic characterization of a genetically engineered mouse model of CS. With the support of the French Costello Syndrome Association, the Institut Clinique de la Souris (ICS) has generated a new CS mouse model, by introducing the oncogenic G12S mutation by homologous recombination into the mouse Ras gene. An experimental cohort of 9 homozygous H-Ras G12S mutant male mice and 9 wild type (WT) littermate counterparts was generated for comprehensive phenotypic analysis. The effect of the H-Ras G12S mutation was evaluated on behavioural, visual, metabolic, cardiac and histological traits in young adult animals. The behavioral analysis revealed that H-Ras G12S mutant males displayed reduced locomotor activity in different situations including the SHIRPA, the openfield test, the actimetric cages and the Y-maze assay. Furthermore, reduced activity appeared to be accompanied by decreased muscle strength in the grip test and altered motor coordination performance in the rotarod assay. On the other hand, the H-Ras G12S mutant mice showed improved working memory performance in the Y-maze spontaneous alternation task. In addition, the cardiac exploration revealed that H-Ras G12S mutants exhibit a hypertensive phenotype combined with tachycardia. However, histological analysis did not reveal H-Ras G12S-related macro- or microscopic lesions. In conclusion, the H-Ras G12S mutant mice showed a polysyndromic phenotype reproducing some of the CS features including reduced locomotor activity, decreased muscle strength and hypertension. The future study of the here-described CS

mouse model should have a significant impact of our understanding of CS disease. The use of H-Ras G12S mutant mice as a CS mouse model opens up new fields of investigation to better understand the pathophysiology of the disease and to evaluate drugs dedicated to the reduction of the disease associated symptoms.

**Mots-clefs :** Mouse Model for Costello Syndrome, H-Ras G12S mutation, polysyndromic phenotype

## CS66/#659

### La régulation glycémique du tissu adipeux dans les ciliopathies avec obésité

VINCENT MARION (1), MARIA JULIA SCERBO (2) ELODIE HASER (2), CATHY OBRINGER (3), CORINNE STOETZEL (2), HELENE DOLLFUS (1,3,4)  
1. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, INSERM, STRASBOURG, France  
2. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, UNIVERSITE DE STRASBOURG, STRASBOURG, France  
3. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, HOPITAUX UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG, STRASBOURG, France  
4. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, UNIVERSITE DE STRASBOURG, STRASBOURG, France

**Auteur correspondant :** MARION VINCENT (vincent.marion@unistra.fr)

L'étude des maladies rares génétiques représente une approche extrêmement utile permettant une meilleure compréhension de certaines maladies communes et ainsi permet d'assurer une meilleure prise en charge des patients. Parmi les différents groupes de maladies rares connues à ce jour, nous retrouvons un groupe de pathologies, que sont les ciliopathies ayant pour origine un défaut dans le cil primaire. Ce dernier est un organelle ubiquitaire des cellules eucaryotes possédant divers rôles mécanosenseurs et sensoriels. Parmi ces différentes ciliopathies, deux d'entre elles, le syndrome d'Alström (ALMS) et le syndrome de Bardet Biedl (BBS), sont caractérisées, en plus de traits cardinaux tels que la dystrophie rétinienne et l'atteinte rénale, par une obésité souvent sévère. Dans le cas du syndrome de Bardet Biedl, cette obésité est associée à une augmentation de la sensibilité à l'insuline du tissu adipeux retardant ainsi l'apparition d'un diabète de type 2 chez les patients tout comme dans l'un de nos modèles de souris pour le BBS. Alors que dans le cas du syndrome d'Alström, l'obésité est presque constamment associée à une résistance à l'insuline et donc à un diabète de type 2 à la fois chez les patients et dans le modèle murin naturel pour l'ALMS, la souris fattie aussie. Grâce à une étude approfondie de ces deux syndromes, nous avons pu identifier dans le cas du BBS qu'il y avait un recrutement massif des cellules souches vers la voie adipogénique résultant en une hyperplasie du tissu adipeux et à une meilleure sensibilité à l'insuline, alors que dans le cas de l'ALMS, les voies adipogéniques n'étaient pas altérées mais que l'adipocyte mature ne pouvait pas absorber le glucose. De plus, nous avons identifié un nouveau complexe protéique que nous avons appelé l'Almsome qui permet la fusion du transporteur du glucose majoritaire de l'adipocyte, le GLUT4, avec la membrane plasmique pour l'absorption du glucose dans le tissu adipeux. Ainsi grâce à l'étude du phénotype de l'obésité et du diabète dans les maladies rares génétiques, nous avons pu identifier de nouvelles voies de régulation et donc de nouvelles cibles thérapeutiques pour une maladie commune qu'est le diabète.

**Mots-clefs :** CILIOPATHIES, OBESITE, DIABETE

## CS67/#506

### RSK2: un modulateur du développement crânio-facial

Virginie Laugel-Haushalter (1), Marie Paschaki (1), Pauline Marangoni (2), Coralie Pilgram (3), Arnaud Langer (3), Thibaut Kuntz (3), Julie Demassue (3), Supawich Morkmued (1,3,7), Philippe Choquet (4), André Constantinesco (4), Fabien Bornert (3,6), Matthieu Schmittbuhl (3,5,6), Solange Pannetier (1), Laurent Viriot (2), André Hanauer (1), Pascal Dollé (1), Agnès Bloch-Zupan (1,3,5)  
1. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Centre National de la Recherche Scientifique (UMR 7104), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (U 964), Université de Strasbourg, Illkirch, France  
2. Equipe « Evo-Devo de la dentition des vertébrés », Institut de Génétique Fonctionnelle de Lyon, Unité Mixte de Recherche 5242 Centre National de la Recherche Scientifique, Ecole Normale Supérieure de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France.  
3. Faculté de Chirurgie Dentaire, Université de Strasbourg, Strasbourg France  
4. UF6237 Laboratoire Imagerie Préclinique, Biophysique et Médecine Nucléaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 1, avenue Molière, 67098 Strasbourg, France; ICube, CNRS, Unistra, Strasbourg, France  
5. Centre de référence des manifestations odontologiques des maladies rares, Pôle de Médecine et Chirurgie Bucco-Dentaires, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS), Strasbourg, France  
6. INSERM U1121, "Biomatériaux et Bioingénierie", Université de Strasbourg, Strasbourg, France  
7. Faculté de Chirurgie Dentaire, Université de Khon Kaen, Thaïlande.

**Auteur correspondant :** Bloch-Zupan Agnès (agnes.bloch-zupan@unistra.fr)

Le gène RSK2 est responsable, s'il est muté, du syndrome de Coffin-Lowry, une maladie neurologique rare transmise selon le mode dominant lié à l'X et dont les signes cliniques cardinaux sont le retard psychomoteur et de croissance, des malformations squelettiques, une dysmorphie faciale et des anomalies digitales. Les anomalies du massif crânio-facial et des dents rencontrées dans cette maladie sont peu connues et mal caractérisées.

Nous avons examiné par analyse en microtomographie à rayons X (micro-CT) la dysmorphie crânio-faciale et les anomalies dentaires présentes chez la souris KO Rsk2-*Y*, ainsi que chez le triple mutant nul Rsk1,2,3-*-/-*. La mutation de Rsk2 est responsable de la formation d'une molaire surnuméraire en position mésiale de la première molaire M1. Ce phénotype, très pénétrant, met en lumière l'existence de dents dites « ancestrales » et perdues au cours de l'évolution chez la souris. Ces dents surnuméraires provoquent une diminution de la taille du diastème, espace sans dents, entre l'incisive de rongeur à croissance continue et les 3 molaires. Des anomalies de la forme des dents en particulier de la portion mésiale des premières molaires sont également présentes. L'analyse des patrons d'expression des 4 gènes Rsk (Rsk1, 2, 3 and 4) réalisés par hybridation au cours des différents stades de l'odontogenèse chez la souris sauvage montre que Rsk2 est exprimé dans l'ectomésenchyme originnaire des crêtes neurales céphaliques et plus spécifiquement dans les zones de prolifération. Ce patron est compatible avec un rôle possible de RSK2 dans le contrôle du cycle cellulaire et de la régulation de la croissance. Pour appréhender les voies de signalisation moléculaires sous-tendant l'apparition de cette molaire surnuméraire, nous avons mis en œuvre une analyse transcriptomique comparative sur des explants molaires mandibulaires sauvages versus Rsk2-*Y*. Une dérégulation de certains gènes critiques, mis en lumière par l'analyse transcriptomique, est confirmée in vitro dans un système de culture organotypique de germes dentaires microinjectés et électroporés avec un shRNA inactivateur de Rsk2.

Cette étude montre que RSK2 régule le développement crânio-facial et dentaire par l'intermédiaire de nouvelles cibles transcriptionnelles.

Ce projet est financé par l'API, HUS, 2009-2012, "Développement de la cavité buccale : des gènes à l'expression clinique chez l'homme", l'IFRO (Institut Français pour la Recherche Odontologique), par des fonds institutionnels du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) et de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), de l'Université de



Strasbourg et par l'Offensive Sciences de la Région Métropolitaine Trinationale du Rhin supérieur (RMT), cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional (FEDER) de l'Union européenne dans le cadre du programme INTERREG IV Rhin supérieur (projet A27, Manifestations bucco-dentaires des maladies rares).

**Mots-clés** : RSK2, Coffin-Lowry, Anomalies crânio-faciales et dentaires

## CS68/#345

### La répression transitoire de *ddhd1b* du poisson zèbre induit un comportement moteur altéré de type spastique potentiellement réversible

Angèle Tingaud-Sequeira (1), Demetrio Raldúa (2), Guilaine Mathieu (1), Anja Knoll-Gellida (1), Cyril Goizet (1), Patrick J. Babin (1)

1. Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA 4576, Université de Bordeaux, Talence, France  
2. IDAEA-CSIC, Barcelona, Espagne

**Auteur correspondant** : Babin Patrick J. (p.babin@gpp.u-bordeaux1.fr)

Contexte : SPG28 a été décrit comme une forme pure de paraplégie spastique héréditaire (PSH) autosomique récessive. Très récemment, des mutations dans *DDHD1*, qui code pour une phospholipase A1 intracellulaire ont été identifiées dans SPG28.

Méthodes : Dans ce travail, nous avons déterminé le profil d'expression des homologues de *DDHD1* au cours du développement embryonnaire et chez l'adulte du poisson zèbre. Nous avons également évalué les effets de l'inactivation génique transitoire à l'aide d'oligonucléotide morpholino antisens (MO) spécifiques sur la morphogénèse et l'activité motrice d'éleutheroembryons en utilisant une imagerie haute vitesse avec une résolution de l'ordre de la milliseconde.

Résultats : Deux homologues, *ddhd1b* et *ddhd1l*, ont été identifiés avec une expression de leurs transcrits dans les ovaires au stade adulte. Les transcrits de *ddhd1b* sont par ailleurs détectés dès la gastrula au cours du développement embryonnaire et dans le cerveau et les testicules des adultes. La répression spécifique de *ddhd1b* a été réalisée à l'aide de MO ciblant le codon initiateur de la traduction ainsi que la jonction d'épissage exon 4-intron 4. À des concentrations de MO précises, la morphologie des éleutheroembryons de 3 jours post-fécondation (dpf) n'a pas été modifiée et aucune déficience dans la formation des axones des motoneurons primaires et secondaires n'a pu être détectée. Toutefois, une perturbation du répertoire stéréotypé du comportement moteur a été démontrée par utilisation du test de réaction de fuite rapide induit par un stimulus tactile sur la tête des éleutheroembryons. Une perturbation cinématique du module de nage rapide avec une diminution significative de la fréquence, de la vitesse, et de l'efficacité de la nage a été démontrée. Ce phénotype induit était clairement différent du comportement de nage lente. Par ailleurs, aucune modification du courbure initiale de type C ainsi que du premier contre-balancement n'ont été observées chez les morphants. Ceci suggère une altération de la fonctionnalité d'interneurones du réseau locomoteur spinal (RLS) spécifiquement impliquée dans le comportement de nage, mais pas dans la réaction de fuite. Enfin, par un suivi individuel des éleutheroembryons morphants entre 3 et 6 dpf, un sauvetage des défauts du comportement de nage a pu être démontrée ce qui suggère une restauration des processus biochimiques altérés suite à la fin de l'effet du MO.

Conclusions : Nous avons induit un comportement moteur évoquant une spasticité en réprimant l'expression de *ddhd1b* chez le poisson zèbre. L'activité motrice altérée est réversible lors de la fin d'action du MO. Ces résultats ont conduit à l'hypothèse d'un rôle spécifique de *DDHD1* dans la fonctionnalité du RLS sans rapport avec la morphogénèse des motoneurons spinaux.

Soutiens : P.J.B. est soutenu financièrement pour ce travail par l'ANR (2010BLAN 1126 01/LIGENAX) et l'AFM (MNM2 2012 14879).

**Mots-clés** : Paraplégie spastique héréditaire, Inactivation génique transitoire et altération réversible de l'activité motrice, Modèle poisson zèbre

## CS69/#446

### Défaut de fusion des myoblastes : un nouveau mécanisme pathogénique révélé par des analyses comparées en cellules, chez le chien et la souris, responsable de l'hypotrophie musculaire observée dans des myopathies congénitales

Jordan Blondelle (1), Yusuke Ohno (2), Stéphane Guyot (3), Sébastien Storck (4), Nicolas Blanchard-Gutton (5), Gemma Walmsley (6), Laurent Guillaud (1), Marie Maurer (1), Inès Barthélémy (5), Jean Demarquoy (3), Richard Piercy (6), Stéphane Blot (5), Akio Kihara (2), Laurent Tiret (1), Fanny Pilot-Storck (1)

1. UMR955 INRA-ENVA de Génétique Fonctionnelle et Médicale, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France  
2. Laboratory of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Hokkaido, Sapporo, Japon  
3. Laboratoire Bio-PeroxiL, Faculté des sciences Gabriel, Dijon, France  
4. Unité 783 Développement du système immunitaire, Necker-Enfants malades, Université Paris Descartes, Paris, France  
5. UPR de neurobiologie, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France  
6. Department of veterinary clinical sciences, Royal veterinary college, London, Royaume-Uni

**Auteur correspondant** : Tiret Laurent (ltiret@vet-alfort.fr)

Chez l'homme, les myopathies centronucléaire et myotubulaire (CNM) forment un groupe nosologique hétérogène d'affections musculaires congénitales. Ces affections ont en commun une faiblesse générale et une atrophie musculaire, conduisant dans les cas sévères au décès précoce des enfants atteints. Les biopsies des patients montrent des fibres musculaires hypotrophiques, des fibres présentant des noyaux anormalement localisés en position interne ou centrale et des défauts des tubules transverses. À ce jour, des mutations pathogènes récessives ou dominantes ont été identifiées dans sept gènes. La compréhension des mécanismes physiopathologiques communs à ces myopathies et associant l'ensemble de ces protéines est un enjeu pour tenter d'élaborer une stratégie thérapeutique commune.

Nous avons contribué à la caractérisation de trois modèles spontanés de chiens atteints de CNM ; en particulier, nous avons montré qu'une perte de fonction du gène *PTPLA/HACD1* mène à la forme autosomique récessive de CNM qui touche les chiens de race Labrador Retriever. L'utilisation combinée de ce modèle spontané de CNM chez le chien, d'un modèle *Hacd1*-knockout généré chez la souris et d'un modèle *Hacd1*-knockdown de myoblastes en culture nous a permis de montrer que *HACD1* produit trois isoformes par épissage alternatif. Ces trois isoformes codent toutes pour des protéines résidentes du réticulum endoplasmique ; nous avons néanmoins déterminé que l'une d'elles est spécifiquement exprimée dans le muscle strié et que son expression est fortement induite dans les myoblastes lors de leur entrée en différenciation. Les analyses in vitro ont montré que cette isoforme musculaire fait partie d'un complexe protéique du réticulum requis pour l'allongement des acides gras à très longue chaîne, composants majeurs de lipides complexes jouant des rôles structurels ou de signalisation. Dans les myoblastes déficients en *HACD1*, la composition lipidique des membranes est altérée, entraînant une diminution concomitante de la fluidité membranaire et une réduction de la fusion des myoblastes. Nous avons établi que ce défaut de fusion est compatible, in vivo, avec l'hypotrophie des fibres musculaires observée chez les patients humains et lors

du développement musculaire postnatal ou consécutif à une régénération induite dans les souris et les chiens adultes déficients en HACD1.

Au bilan, nous proposons que le défaut de fusion des myoblastes constitue un nouveau mécanisme pathogénique des CNM, et plus largement des myopathies congénitales présentant une hypotrophie des fibres musculaires. Nous révélons que la régulation de l'épissage du gène HACD1 constitue une étape clé du contrôle génétique de cette fusion, via la modification des propriétés membranaires permissives des myoblastes. Combinés aux anomalies de tubulation transverse du sarcolemme préalablement caractérisées, nos résultats confirment le rôle central du remodelage et du trafic membranaire dans la pathogénie des CNM.

**Mots-clefs :** Myopathie congénitale centronucléaire, hypotrophie musculaire, Modèles induits (souris) et spontanés (chiens), génétique médicale vétérinaire, essais précliniques, Physiopathologie comparée, fluidité et fusion membranaire, lipides complexes

## CS70/#795

### Régulation de la morphogène bronchique cours du développement pulmonaire précoce

Pierre Blanc (1), Loïc Blanchon (2), Karen Coste (3), Vincent Sapin (1)  
1. Biochimie-Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France  
2. Equipe R2D2, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France  
3. Unité de soins intensifs néonatalogiques, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** Blanc Pierre (pblanc@chu-clermontferrand.fr)

Les voies aériennes des mammifères se présentent sous forme d'une arborescence complexe qui se développe par branchement itératif des tubes épithéliaux dans le mésenchyme environnant. La morphogénèse bronchique implique une régulation épithélio-mésenchymateuse croisée dont l'organisation globale, à l'échelle de l'organe, est mal comprise. Le modèle d'explication actuel repose sur la très haute stéréotypie du processus de branchement chez la souris et propose l'existence d'un programme génétique modulaire qui encoderait le plan complet de l'arbre bronchique. Par une analyse morphologique 3-D in vivo du processus de branchement précoce chez la souris (E11.25-E13.75), nous avons tout d'abord démontré que le processus de branchement est moins stéréotypé que ce qui était décrit jusqu'alors. Il existe non seulement des variations temporelles, spatiales et morphologiques dans la structure de l'arbre, mais ces dernières sont de fréquence et de types équivalents à celles qui sont observées chez l'homme. En dépit de ces variations, le branchement continue normalement sans conflit entre bourgeons ni lacunes dans le mésenchyme et la distribution des bourgeons demeure statistiquement très homogène, suggérant un mécanisme de remplissage de l'espace en temps réel. Dans un second temps, nous montrons, en simulant la diffusion d'un facteur de croissance clé dans le processus de branchement (FGF10) et en couplant la croissance de l'épithélium et du mésenchyme, que la dynamique laplacienne qui se met en place provoque l'émergence spontanée d'une arborescence dont les bourgeons remplissent l'espace en s'auto-évitant. Réunies, ces données suggèrent que le plan de l'arbre bronchique n'est pas prédéfini de manière rigide. Au contraire, la morphogénèse bronchique repose probablement un processus de remplissage de l'espace en temps réel, en partie auto-organisé, dont la régulation est assurée par un jeu restreint d'acteurs moléculaires.

**Mots-clefs :** morphogénèse bronchique, développement pulmonaire, FGF10

## CS71/#796

### Restauration phénotypique après administration intraveineuse d'un vecteur AAV9-Hexb dans un modèle murin de la maladie de Sandhoff

Natalia Niemir (1), Aurore Besse (2), Marie Vanier (3), Laura Rouvière (1), Jasmine Dmytrus (4), Thibaut Marais (2), Stéphanie Astord (2), Jean-Philippe Puech (5), Jonathan D. Cooper (4), Martine Barkats (2), Catherine Caillaud (1,5)

1. INSERM U845, Université Paris Descartes, Institut Necker Enfants Malades, Paris, France
2. INSERM U974, Institut de Myologie, Paris, France
3. INSERM U820, Université Lyon, Lyon, France
4. Department of Neuroscience, James Black Centre, Institute of Psychiatry, King's College, London, Royaume-Uni
5. Laboratoire de Biochimie, Métabolomique et Protéomique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** CAILLAUD Catherine (catherine.caillaud@inserm.fr)

La maladie de Sandhoff ou gangliosidose à GM2 variant 0 est une affection à transmission autosomique récessive, due à des mutations du gène HEXB codant la chaîne bêta des hexosaminidases. Elle s'accompagne d'un double déficit en Hex A (alpha-bêta) et Hex B (bêta-bêta), responsable d'une accumulation de ganglioside GM2, principalement dans le système nerveux central (SNC). Sur le plan clinique, cette maladie débute généralement dans les premiers mois de la vie et conduit au décès vers l'âge de 2-3 ans. Un modèle animal a été obtenu par inactivation du gène Hexb, mimant assez bien la maladie humaine. Un vecteur AAV9 codant la chaîne bêta des hexosaminidases (AAV9-hexb) a été construit, puis administré par voie intraveineuse chez des souriceaux Hexb<sup>-/-</sup> en période néonatale. Différentes doses ont été testées, mais la dose optimale a été déterminée aux alentours de 3,5 x 10<sup>13</sup> vg/kg. Les animaux injectés ont un allongement significatif de leur durée de vie (> 500 jours) par comparaison avec les animaux Sandhoff non traités (120 jours en moyenne). Cette étude de la survie est encore en cours, les animaux étant toujours vivants et en bon état clinique : maintien d'un poids normal, absence de tremblements. Les tests de comportement (rotarod, actimètre, ...) réalisés régulièrement chez les animaux traités montrent des résultats similaires à ceux des animaux normaux.

Le dosage des hexosaminidases A et B à l'aide de substrats synthétiques montre une augmentation d'activité dans les différents tissus. Ainsi, l'hexosaminidase A, seule capable de dégrader le ganglioside GM2, atteint 15% dans le cerveau et 40% dans le foie, une restauration partielle qui peut cependant être considérée comme thérapeutique. Par ailleurs, les lipides totaux ont été extraits à partir du cerveau des différents animaux, puis purifiés et analysés par chromatographie en couche mince. Alors que les animaux Sandhoff non traités présentent une accumulation rapide de ganglioside GM2, les animaux traités sont tout à fait comparables aux normaux. Différentes techniques immunohistochimiques ont été utilisées pour évaluer la surcharge, mais aussi certaines caractéristiques physiopathologiques de la maladie (activation microgliale, astrogliose). Sur les différents critères examinés, les animaux injectés sont comparables aux animaux contrôles, confirmant un effet protecteur du vecteur thérapeutique. Au final, l'administration du vecteur AAV9-Hexb chez les souriceaux Sandhoff en période néonatale permet une survie et une restauration phénotypique des animaux. La prochaine étape sera de démontrer l'efficacité de ce vecteur après administration à un âge plus tardif afin d'optimiser la pertinence clinique.

**Mots-clefs :** Maladie de Sandhoff, Transfert de gène, Vecteur AAV

## CS72/#42

### Traitement de la protoporphyrie érythropoïétique humaine par l'utilisation d'oligonucléotides antisens.

#### Antisense Oligonucleotide-based Therapy in Human Erythropoietic Protoporphyrin.

Vincent Oustric (1), Hana Manceau (1), Sarah Ducamp (1), Zoubida Karim (1), Carole Beaumont (1), Hubert de Verneuil (2), Bernard Grandchamp (1), Véronique Guyonnet Dupérat (2), Said Lyoumi (1), Arienne Mirmiran (1), François Moreau Godry (2), Hervé Puy (1), Jean-Charles Deybach (1), Laurent Gouya (1)

1. U773, INSERM, Paris, France
2. U1035, INSERM, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Deybach Jean-Charles (jc.deybach@wanadoo.fr)

In 90% of erythropoietic protoporphyria (EPP) patients, the disease results from the inheritance of a common hypomorphic FECH allele in trans to a private deleterious FECH mutation. The activity of the resulting FECH enzyme falls below the critical threshold of 35% leading to the accumulation of free protoporphyrin IX (PPIX) in bone marrow erythroblasts and in red cells. The mechanism of low expression involves a biallelic polymorphism (IVS3-48C/T) localized in intron 3. The IVS3-48C allele increases usage of the exon 3-4 3' cryptic splice site, resulting in the transcription of an unstable mRNA with a premature STOP codon, reducing the abundance of wild-type FECH mRNA and finally reducing FECH activity. Through a candidate sequence approach and an antisense oligonucleotide-titling method, we identified a sequence which when targeted by an antisense oligonucleotide (ASO-V1) prevented usage of the cryptic splice site. In lymphoblastoid cell lines derived from symptomatic EPP patients, transfection of ASO-V1 reduced the usage of the cryptic splice site, and efficiently redirected the splicing of intron 3 towards the physiological acceptor site, thereby increasing the amount of functional FECH mRNA. Moreover, the administration of ASO-V1 into human developing erythroblasts from an overtly EPP patient markedly increased the production of WT FECH mRNA, and reduced the accumulation of PPIX to a level similar to that measured in asymptomatic EPP patients. Thus, EPP appears to be a prototypic Mendelian disease where the in vivo correction of a single splicing defect by a ASO strategy is likely to cure the condition of the vast majority of overtly EPP patients worldwide.

**Mots-clés :** Oligonucléotide antisens, thérapie génique, protoporphyrie érythropoïétique

## Chromosomes, gènes et cancer

### CS73/#632

#### Des mutations rares dans le gène RINT1 prédisposent au cancer du sein précoce.

Fabienne Lesueur (1), Daniel J. Park (2), Kayoto Tao (3), Florence Le Calvez-Kelm (4), Tú Nguyen-Dumont (2), Nivonirina Robinot (4), Fleur Hammet (2), Fabrice Odefrey (2), Helen Tsimiklis (2), Zhi L. Teo (2), Louise B. Thingholm (2), Catherine Voegelé (4), Andrew Lonie (5), Bernie J. Pope (5), Esther M. John (6,7), Irene L. Andrusis (8), Mary Beth Terry (9), Michael Daly (10), Sandra Buys (11), Breast Cancer Family Registry, Kathleen Cunningham Foundation Consortium for Research into Familial Breast Cancer, Graham G. Giles (12), John L. Hopper (13), David E. Goldgar (14), Sean V. Tavtigian (3), Melissa C. Southey (2)

1. Inserm U900, Institut Curie/Mines ParisTech, Paris, France
2. Genetic Epidemiology Laboratory, The University of Melbourne, Australie

3. Department of Oncological Sciences, Huntsman Cancer Institute, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, USA
4. Genetic Cancer Susceptibility Group, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
5. Victorian Life Sciences Computation Initiative, Carlton, Victoria, Australie
6. Cancer Prevention Institute of California, Fremont, USA
7. Department of Health Research and Policy, Stanford Cancer Center Institute, Stanford, USA
8. Department of Molecular Genetics, Samuel Lunenfeld Research Institute, Mount Sinai Hospital, Toronto, Canada
9. Department of Epidemiology, Mailman School of Public Health, Columbia University, New York, NY 10032, USA
10. Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, USA
11. Huntsman Cancer Institute, University of Utah Health Sciences Center, Salt Lake City, USA
12. Centre for Cancer Epidemiology, The Cancer Council Victoria, Carlton, Australie
13. Centre for Molecular, Environmental, Genetic, and Analytical Epidemiology, School of Population Health, The University of Melbourne, Australie
14. Department of Dermatology, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, UT 84132, USA

**Auteur correspondant :** Lesueur Fabienne (fabienne.lesueur@curie.fr)

Le séquençage de l'exome de 93 sujets issus de 49 familles avec des cas multiples de cancer du sein (CS) a révélé trois mutations germinales dans le gène RINT1 dans trois familles australiennes. Nous avons ensuite reséquéncé la totalité de la séquence codante du gène dans un échantillon de population du Breast Cancer Family Registry, composé de 1313 femmes ayant eu un CS avant 45 ans et 1123 témoins appariées sur l'âge et l'origine ethnique. Cette étape de validation nous a permis de caractériser d'autres variant potentiellement délétères de RINT1 dans 22 cas et 5 témoins (OR=3.81, 95%CI (1.36, 11.50); PFET =0.003). En parallèle, la recherche de mutation chez 684 femmes avec une forte histoire familiale de CS nous a permis d'identifier des mutations de RINT1 dans six familles supplémentaires. Les études fonctionnelles rapportées dans la littérature ont montré que RINT1 agit comme régulateur négatif de la prolifération cellulaire. Par ailleurs, les souris Rint1<sup>+/-</sup> développent spontanément et dans 81% des cas différents types de tumeurs dont des adénocarcinomes mammaires. Ce taux de tumeurs spontanées est plus élevé que celui observé chez souris Brca1<sup>+/-</sup>. Il est donc très intéressant de souligner qu'on observe dans les familles avec une mutation de RINT1 deux à trois fois plus de cancers, notamment des cancers associés à un défaut du système de réparation des mésappariements de l'ADN comme ceux rencontrés dans un contexte HNPCC. Ainsi, le nouveau gène de prédisposition au cancer du sein RINT1 pourrait être impliqué dans la prédisposition à d'autres cancers.

**Mots-clés :** cancer du sein, prédisposition génétique, RINT1

### CS74/#196

#### Pik3r1 underexpression is an independent prognostic marker in breast cancer.

Sophie Vacher (1), Magdalena Cizkova (2,3,4), Didier Meseure (5), Martine Trassard (5), Aurélie Susini (2), Dana Mlcuchova (4), Céline Callens (1), Etienne Rouleau (1), Frédérique Spyrtos (2), Rosette Lidereau (2), Ivan Bieche (1,6)

1. Unité de Pharmacogénomique, Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France
3. Department of Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic
4. Laboratory of Experimental Medicine, Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic
5. Département de Pathologie, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France



6. UMR745 INSERM, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France

**Auteur correspondant :** Vacher Sophie (sophie.vacher@curie.net)

**Introduction:** The present study focused on the prognostic roles of PIK3CA and PIK3R1 genes and additional PI3K pathway-associated genes in breast cancer.

**Methods:** The mutational and mRNA expression status of PIK3CA, PIK3R1 and AKT1, and expression status of other genes involved in the PI3K pathway (EGFR, PDK1, PTEN, AKT2, AKT3, GOLPH3, WEE1, P70S6K) were assessed in a series of 458 breast cancer samples.

**Results:** PIK3CA mutations were identified in 151 samples (33.0%) in exons 1, 2, 9 and 20. PIK3R1 mutations were found in 11 samples (2.4%) and underexpression in 283 samples (61.8%). AKT1 mutations were found in 15 samples (3.3%) and overexpression in 116 samples (25.3%). PIK3R1 underexpression was mutually exclusive with PIK3CA mutations ( $p=0.00097$ ). Tumors characterized by PIK3R1 underexpression were associated with PDK1 overexpression ( $p=0.000004$ ) and EGFR and PTEN underexpression ( $p=0.0096$  and  $p<0.0000001$ , respectively). PIK3CA mutations were associated with better metastasis-free survival and PIK3R1 underexpression was associated with poorer metastasis-free survival ( $p=0.014$  and  $p=0.00028$ , respectively). By combining PIK3CA mutation and PIK3R1 expression status, four prognostic groups were identified with significantly different metastasis-free survival ( $p=0.00046$ ). On Cox multivariate regression analysis, the prognostic significance of PIK3R1 underexpression was confirmed in the total population ( $p=0.0013$ ) and in breast cancer subgroups.

**Conclusions:** Alterations in PIK3CA and PIK3R1 show opposite effects on patient outcome and could become useful prognostic and predictive factors in breast cancer.

**Mots-clefs :** PIK3R1, PIK3CA, Breast cancer

## CS75/#231

### Etude de la signification des remaniements génomiques récurrents des tumeurs BRCA2

Audrey Rouault (1), Guillaume Banneau (1), Gaetan Mac Grogan (2), Nathalie Jones (3), Nabila Elarouci (4), Emmanuelle Barouk-Simonet (3), Virginie Bubien (3), Laurence Venat (5), Isabelle Coupier (6), Eric Letouzé (4), Aurélien Reyniès (4), Richard Iggo (1), Françoise Bonnet (3), Michel Longy (3), Nicolas Sevenet (3)

- INSERM U916, Institut Bergonié, Bordeaux, France
- Département de Pathologie, Institut Bergonié, Bordeaux, France
- Unité d'Oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
- Programme Carte d'Identité des Tumeurs, Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France
- Service d'Oncologie, Hôpital Dupuytren, Bordeaux, France
- Unité d'Oncogénétique, Institut régional du cancer Val d'Aurelle, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** Rouault Audrey (aud.rouault@orange.fr)

**Rationnel :** Les cancers du sein liés à une mutation constitutionnelle de BRCA2 constituent un groupe de tumeurs hétérogène. Aucun consensus concernant le type histologique et le profil d'expression de biomarqueurs de ces tumeurs n'est clairement établi. De ce fait, l'indication d'une recherche de mutation dans BRCA2 repose essentiellement sur des critères généalogiques mais la fréquence de mise en évidence d'une mutation dans ces indications reste modeste. La définition de caractéristiques tumorales communes aux tumeurs du sein survenant dans un contexte de prédisposition lié à BRCA2 aurait ainsi deux objectifs :

(i) Identifier des caractéristiques propres aux tumeurs BRCA2 permettant de mieux définir les indications de recherche de mutation de ce gène.

(ii) Explorer la signification des remaniements récurrents des tumeurs BRCA2 pouvant avoir un lien avec la tumorigénèse mammaire liée à une mutation constitutionnelle BRCA2.

**Matériel et méthodes :** Une série de tumeurs familiales du sein a été constituée, formée de deux populations distinctes : des tumeurs mutées pour BRCA2 et des tumeurs non mutées pour BRCA1/BRCA2 appelées BRCAX, servant de groupe-contrôle.

**Résultats :** Les études par CGH-Array et puces SNPs ont permis de caractériser dans les tumeurs l'existence de 2 remaniements cytogénétiques régulièrement associés aux mutations germinales BRCA2, sous forme de délétion des bras longs des chromosomes 13 et 14. Une région minimale de délétion a été déterminée sur les 2 chromosomes. La réalisation d'analyses supervisées sur les données de transcriptome entre les tumeurs BRCA2 et les tumeurs familiales BRCAX, a permis de caractériser une signature spécifique des tumeurs BRCA2. Les gènes sous-exprimés, localisés sur les bras longs des chromosomes 13 et 14, sont fortement représentés dans la signature transcriptomique. Les exomes des chromosomes 13 & 14 pour 5 tumeurs informatives et leur ADN constitutionnel ont alors été séquencés.

**Analyse des résultats et perspectives :** la spécificité des pertes de matériel chromosomique dans les tumeurs BRCA2, confirmée dans plusieurs études indépendantes [1-3], autorise 2 perspectives : (i) un intérêt diagnostique avec le développement d'un test FISH utilisable pour préciser les indications d'une recherche de mutation du gène BRCA2 ; (ii) L'identification de gènes cibles candidats dont l'inactivation est requise lors de la cancérisation mammaire liée à BRCA2.

**Références**

- Joose SA, Brandwijk KI, Devilee P, et al. Prediction of BRCA2-association in hereditary breast carcinomas using array-CGH. *Breast Cancer Res Treat* 2012 Apr;132(2):379-89.
- Pecuchet N, Popova T, Manie E, et al. Loss of heterozygosity at 13q13 and 14q32 predicts BRCA2 inactivation in luminal breast carcinomas. *Int J Cancer* 2013 Jun 10.
- Stefansson OA, Jonasson JG, Johannsson OT, et al. Genomic profiling of breast tumours in relation to BRCA abnormalities and phenotypes. *Breast Cancer Res* 2009;11(4):R47.

**Mots-clefs :** NGS, BRCA2, Signature transcriptomique

## CS76/#206

### Quels gènes sont impliqués dans la phase précoce de cancérogenèse colorectale ? Identification par séquençage massif parallèle.

Romain Ducoudray (1), Zofia Hélias-Rodzawicz (1), Janick Selves (2), Florence Coulet (3), Frédérique Peschaud (4), Dominique Lamarque (5), Bernard Nordlinger (4), Jean-François Emile (1)

- Anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France
- Anatomie et cytologie pathologiques, hôpital purpan, Toulouse, France
- Département de Génétique, UF d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- Chirurgie digestive, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France
- gastro-entérologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

**Auteur correspondant :** Ducoudray Romain (romainducoudray@free.fr)

**But du travail**

L'étude du génome complet par séquençage massif parallèle (SMP) a permis de déterminer les altérations génétiques dans le cancer colorectal (CCR). Cependant, très peu d'adénomes ont jusqu'à présent été analysés par cette technique. Cette étude avait pour objectif d'identifier les gènes impliqués dans la phase précoce

de cancérogenèse colorectale et d'établir une chronologie d'apparition des mutations.

#### Matériel et méthodes

Dans la phase exploratoire, les exomes complets de 15 adénomes d'un patient porteur d'un déficit de réparation de l'ADN (MUTYH) ont été analysés. Ce patient avait eu une coloproctectomie totale pour polypose atténuée. Cette première analyse a permis de sélectionner 32 gènes, mutés dans au moins 2 adénomes sur les 15 et 7 gènes non mutés dans les adénomes mais associées aux carcinomes colorectaux. Dans la phase de validation, les régions codantes des 39 gènes d'intérêt ont été séquencées par SMP dans 81 adénomes sporadiques. La majorité des mutations ont été validées par Sanger, pyroséquençage ou PCR temps réel. Les données ont été comparées aux fréquences des mutations dans les CCR. Une analyse qualitative (comparaison de plusieurs régions d'un même adénome) et quantitative (comparaison du pourcentage de copies mutées et de copies d'allèle de référence) de l'hétérogénéité tumorale a été réalisée.

#### Résultats

La série exploratoire a permis d'identifier 2048 variants, permettant de sélectionner 32 gènes mutés dans au moins 3 des 15 adénomes. Dans la série de validation, les gènes des voies Wnt (dont APC) et RAS-RAF-MEK étaient mutés pour 91% et 70% des adénomes respectivement, soit en proportion très similaire aux CCR. L'hétérogénéité au sein d'un même adénome existe, mais semble concerner des gènes « passagers ». L'hétérogénéité comparative APC et KRAS a permis de montrer que le contingent de cellules mutées APC est souvent supérieur à KRAS. Mais dans 3 adénomes, la fréquence de mutations KRAS était significativement supérieure à celle d'APC. Nous avons observé 2 hotspot mutationnels somatiques d'APC fréquents, et significativement plus fréquents qu'en constitutionnel (p Conclusion

#### Conclusion

Il s'agit de la plus grande série d'adénomes analysés par SMP. Quatre gènes pourraient être associés à la transformation des adénomes en CCR (TP53, FZD10, SMAD2 et PIK3CA) alors qu'un autre pourrait inhiber cette transformation. Les mutations KRAS semblent plus précoces que les mutations APC dans certains cas. Une troisième voie (dite festonnée) implique BRAF, mais pas APC.

**Mots-clés :** adénomes colorectaux, séquençage massif parallèle, cancérogenèse colorectale

## CS77/#655

### Étude comparative du statut de ALK par FISH et IHC sur 1843 carcinomes bronchopulmonaires non à petites cellules supportant la nécessité d'un double screening

Florian Cabillic (1), Dan Christian Chiforeanu (2), Frédéric Dugay (1), Vincent Jauffret (1), Romain Corre (3), Hervé Lena (3), Michèle Le Calve (1), Nathalie Rioux-Leclercq (2), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (1)

1. Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU de Rennes, Rennes, France
2. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Rennes, Rennes, France
3. Service de Pneumologie, CHU de Rennes, Rennes, France

**Auteur correspondant :** cabillic florian (florian.cabillic@univ-rennes1.fr)

**Introduction :** Des réarrangements du gène Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) ont été identifiés dans 1 à 7% des carcinomes bronchopulmonaires non à petites cellules (CBNPC). Le crizotinib, un inhibiteur de tyrosine kinase, a récemment été approuvé par l'agence européenne EMEA dans cette indication, en association avec un test compagnon consistant en la mise en évidence des réarrangements de ALK par hybridation in situ en fluorescence (FISH). L'utilisation de l'immunohistochimie (IHC) pour le pré-

screening des patients a été proposée mais la concordance entre FISH et IHC reste débattue.

**Méthodes :** Nous avons comparé les résultats de la FISH et de l'IHC sur une série de 1843 CBNPC non sélectionnés, adressés consécutivement à notre plateforme de biologie moléculaire au cours des 12 derniers mois.

**Résultats :** 68 échantillons (3,7%) ont été diagnostiqués positifs soit par FISH soit par IHC mais seulement 33 (1,8%) étaient positifs par les 2 méthodes. 13 réarrangements de ALK ont été identifiés par FISH en absence de surexpression associée de la protéine. Les cas FISH-positif/IHC-négatif représentaient 28% (13/46) des cas diagnostiqués positifs par FISH. Ces 13 patients ne présentaient pas un profil spécifique de réarrangement : 7 profils Break-Apart (BA) et 6 Isolated Red signals (IRS) ont été recensés. A l'inverse 11 échantillons IHC-positif (4 scores 2/3+ et 7 scores 1+) ont été classés négatifs en FISH. L'IHC a identifié 55 échantillons positifs. L'utilisation combinée de la FISH a permis d'identifier 13 patients supplémentaires (24%) éligibles au traitement par crizotinib.

**Conclusion :** Cette étude montre la faisabilité de la recherche systématique en routine de réarrangements de ALK par FISH et de la surexpression de la protéine par IHC et révèle un taux élevé de discordances entre les deux méthodes. Ces résultats sont discordants avec l'arbre hiérarchique diagnostique récemment proposé et basé sur un pré-screening par IHC. Dans l'attente de l'élucidation des causes expliquant les discordances observées dans notre étude, ces résultats supportent l'utilisation combinée de la FISH et de l'IHC afin d'optimiser le nombre de patients susceptibles de bénéficier d'un traitement par un inhibiteur de ALK.

**Mots-clés :** anaplastic lymphoma kinase, biomarqueur tumoral, hybridation in situ en fluorescence

## CS78/#669

### Description d'une translocation complexe t(7;22;9)(p22;q11.2;p24) avec fusion BCR-JAK2 dans une leucémie myéloïde chronique atypique (LMCa) agressive.

Laurent DANO (1), Michèle LEGRAIN (2), Catherine GANGNEUX (1), Lalla Fadoua ABDELMAJID (1), Véronique KUSSAIBI (2), Valérie KREMER (3), Antony LE BECHEC (4), Laurent MIGUET (5), Catherine HELIAS (6), Antoine ITTEL (7), Carine GERVAIS (7), Alice EISCHEN (8), Shanti NATARAJAN-AME (9), Laurent MAUVIEUX (10), Eric JEANDIDIER (11)

1. Laboratoire Régional de Cytogénétique Hématologique d'Alsace, Plate-forme Régionale INCa de Génétique Moléculaire des Cancers d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
2. Plate-forme Régionale INCa de Génétique Moléculaire des Cancers d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
3. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
4. Plate-forme Régionale INCa de Génétique Moléculaire des Cancers d'Alsace, Institut Régional contre le Cancer, STRASBOURG, France
5. Laboratoire d'Hématologie Biologique, Plate-forme Régionale INCa de Génétique Moléculaire des Cancers d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Université de Strasbourg, STRASBOURG, France
6. Laboratoire Régional de Cytogénétique Hématologique d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
7. Laboratoire Régional de Cytogénétique Hématologique d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Université de Strasbourg, STRASBOURG, France
8. Laboratoire d'Hématologie Biologique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
9. Service d'Hématologie et d'Oncologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
10. Laboratoire Régional de Cytogénétique Hématologique d'Alsace, Plate-forme Régionale INCa de Génétique Moléculaire des Cancers d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Université de Strasbourg, STRASBOURG, France
11. Laboratoire Régional de Cytogénétique Hématologique d'Alsace, Plate-forme Régionale INCa de Génétique Moléculaire des Cancers d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Centre Hospitalier de Mulhouse, STRASBOURG, MULHOUSE, France



**Auteur correspondant :** DANO Laurent (laurent.dano@hotmail.fr)

Au contraire de la LMC, les syndromes myéloprolifératifs BCR-ABL1 négatifs ne présentent pas de chromosome Philadelphie ou d'équivalent. Le gène JAK2 est en revanche fréquemment réarrangé. Si l'anomalie la plus fréquente est une mutation ponctuelle dominante conférant un gain de fonction (JAK2 V617F), le rôle des translocations dans l'activation de ce gène n'est pas négligeable. Nous rapportons ici un cas de LMCa avec une translocation t(7;22;9)(p22;q11.2;p24)/BCR-JAK2.

Il s'agit d'un homme de 32 ans présentant une asthénie, une perte de poids (3 kg), des douleurs articulaires et abdominales, associées à une splénomégalie.

L'hémogramme pratiqué devant ce tableau retrouve une anémie (Hb: 7.9g/dL), une hyperleucocytose (neutrophiles : 131x10<sup>9</sup>/L) et 6% de myéloblastes. La moelle est hypercellulaire avec une hyperplasie granulaire, évoquant une LMC.

La cytogénétique conventionnelle réalisée sur la moelle et le sang ne montre pas la t(9;22)(q34;q11.2) attendue, mais, une t(7;22;9)(p22;q11.2;p24). Cette t(9;22)(p24;q11.2) variante est associée, dans un sous-clone majoritaire, à des anomalies chromosomiques secondaires.

L'hybridation d'une sonde de fusion BCR/ABL1 ne détecte pas de signaux de fusion mais un remaniement du gène BCR. L'implication de JAK2 a été démontrée par l'utilisation de BACs.

Les études moléculaires ne révèlent pas de transcrits de fusion BCR-ABL1 ni de mutation JAK2 V617F ; par contre, elles ont permis la détection d'un transcrit de fusion anormal entre l'exon 1 de BCR (région m-bcr) et l'exon 17 de JAK2.

Les approches de séquençage haut débit (NGS) et CGH-array ont permis de caractériser les microdélétions associées aux points de cassure.

La protéine de fusion prédite inclut le domaine d'oligomérisation CC N-terminal de BCR et le domaine JH1 C-terminal de JAK2 ; le domaine tyrosine kinase (TK) de JAK2 conservé aurait une activité fonctionnelle constitutive.

Huit cas de t(9;22)(p24;q11.2) et/ou fusion BCR-JAK2 ont été rapportés. Les descriptions cytogénétiques incluent cinq translocations réciproques, une translocation complexe et une insertion. Au niveau moléculaire, les transcrits chimériques fusionnent l'exon 1 de BCR et l'exon 17 ou 19 de JAK2, démontrant la récurrence des points de cassure de cette anomalie rare mais probablement sous-diagnostiquée.

BCR est, après PCM1 en 8p22, le partenaire le plus fréquent de JAK2. Nos résultats et la littérature posent la question de considérer les cas de LMCa avec fusion de JAK2, associés à une évolution agressive, comme une nouvelle entité, ne répondant pas à l'imatinib, 1ère ligne thérapeutique des LMC. De nouvelles molécules ciblant l'activité TK de BCR-JAK2 devraient être évaluées dans le futur. Un enjeu important sera la sélection des patients candidats à ces thérapies anti-JAK2 innovantes. Ainsi, les fusions JAK2 devraient être recherchées dans les LMCa lors du diagnostic, au niveau génomique, soit par FISH (sonde de cassure du gène) soit par les méthodes basées sur les puces à ADN.

**Mots-clés :** t(9;22)(p24;q11.2), BCR-JAK2, leucémie myéloïde chronique atypique

## CS79/#781

### Intérêt de la recherche de la mutation V600E du gène BRAF pour l'évaluation pré-opératoire des nodules thyroïdiens à partir de ponctions à l'aiguille fine

Olivia BEAUDOUX (1), Eva BRABENCOVA (1), Christian GARBAR (1), Audrey DALAC (2), Sandrine FIEFFE (2), Jean-Marie POCHART (2), Claire SCHVARTZ (2), Chantal DELVINCOURT (1)

1. Département de Bio-pathologie, Institut Jean-Godinot, Reims, France  
2. Unité Thyroïde, Institut Jean-Godinot, Reims, France

**Auteur correspondant :** BEAUDOUX OLIVIA  
(olivia.beaudoux@reims.unicancer.fr)

#### INTRODUCTION :

L'aspiration à l'aiguille fine (ou FNA pour fine-needle aspiration) est couramment utilisée pour l'évaluation cytologique pré-opératoire des nodules thyroïdiens. Toutefois, environ 5 à 20 % des nodules thyroïdiens sont considérés par le diagnostic cytologique comme « indéterminés » ou « suspects de malignité ».

#### OBJECTIFS :

Discuter l'intérêt de l'apport de l'analyse de la mutation V600E du gène BRAF dans les nodules thyroïdiens pour le diagnostic pré-opératoire de cancer papillaire de la thyroïde, en complément du diagnostic cytologique conventionnel.

#### MÉTHODES :

167 échantillons ont été analysés après FNA entre 2008 et 2013.

L'ADN a été extrait à l'aide des réactifs Qiagen.

Le statut mutationnel V600E BRAF a été réalisé en utilisant le séquençage direct de l'exon 15 du gène BRAF combiné avec une PCR TaqMan® spécifique d'allèle (Life Technologies).

Le diagnostic cytologique a été réalisé selon la classification de Bethesda (classe 1 : ponction non diagnostique ; classe 2 : absence de cellules suspectes ; classe 3 : atypies de signification indéterminée ; classe 4 : lésion vésiculaire ; classe 5 : cellules suspectes de malignité ; classe 6 : cellules malignes).

#### RÉSULTATS :

Une mutation BRAF V600E a été identifiée pour 13,7 % des 167 échantillons et a été retrouvée pour 5,4 % des classes 3 Bethesda, 18,7 % des classes 5 et 62,9 % des classes 6.

Aucune mutation n'a été détectée dans les autres classes Bethesda.

La spécificité diagnostique était de 100 % : tous les cas mutés V600E ont eu la confirmation histologique de carcinome papillaire quelle que soit la classe Bethesda.

La présence d'une mutation V600E retrouvée chez 5,4 % des classes 3 et 18,7 % des classes 5 a donc permis d'orienter le diagnostic pré-opératoire en faveur d'un cancer papillaire.

La sensibilité diagnostique était de 40,7 %.

#### CONCLUSIONS :

Cette série confirme l'intérêt de la recherche en biologie moléculaire de la mutation V600E pour le diagnostic de carcinome papillaire dans les nodules de la thyroïde. Cette analyse peut guider la décision chirurgicale, en particulier pour les cas avec cytologie indéterminée ou suspecte de malignité ( Bethesda 3 et 5), grâce à son excellente spécificité diagnostique (100 %).

**Mots-clés :** mutation V600E du gène BRAF, nodules thyroïdiens, carcinome papillaire de la thyroïde

## CS80/#476

### Les mutations SDH établissent un phénotype hyperméthylateur dans les paragangliomes

Eric Letouzé (1), Cosimo Martinelli (2), Céline Lorient (2), Nelly Burnichon (3), Paule Benit (4), Chris Ottolenghi (5), Maxime Janin (5), An Thach Nguyen (2), Mélanie Ménara (2), Alexandre Buffet (6), Charles Marcaillou (7), Jérôme Bertherat (8), Laurence Amar (9), Pierre Rustin (4), Aurélien De Reyniès (1), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (6), Judith Favier (2)

1. Programme Cartes d'Identité des Tumeurs, Ligue Nationale Contre Le Cancer, Paris, France
2. PARCC-U970, INSERM, Paris, France
3. Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Paris, France
4. U676, INSERM, Paris, France
5. Service de Biochimie Métabolique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Service de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
7. IntegraGen, IntegraGen, Evry, France
8. Service des Maladies Endocriniennes et Métaboliques, Hôpital Cochin, Paris, France
9. Service d'Hypertension Artérielle, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

**Auteur correspondant :** Favier Judith (judith.favier@inserm.fr)

Les mutations des gènes codant la succinate déshydrogénase (SDH) mitochondriale ont été identifiées dans plusieurs types de cancers et sont particulièrement fréquentes dans les paragangliomes (PGL) et les phéochromocytomes (PCC). Toutefois, le rôle précis de la SDH dans la cancérogenèse est encore mal connu. Dans cette étude, nous avons montré que l'inactivation de la SDH établit un phénotype hyperméthylateur dans les PGL/PCC, associé à des changements substantiels de la transcription.

La classification d'une grande cohorte de PGL/PCC basée sur les niveaux de méthylation de l'ADN a mis en évidence trois groupes stables, significativement associés à certaines caractéristiques cliniques, aux sous-groupes d'expression géniques préalablement révélés par l'analyse du transcriptome et aux mutations de prédisposition connues. En particulier, les tumeurs liées aux mutations SDHx forment un groupe très spécifique caractérisé par une hyperméthylation concertée d'un grand nombre de loci, qui rappelle le phénotype méthylateur d'îlots CpG décrit dans le cancer colorectal et le glioblastome. Une proportion importante des gènes hyperméthylés est sous-exprimée dans ce groupe de tumeurs, et notamment des gènes impliqués dans le métabolisme des cellules chromaffines et la transition épithélio-mésenchymateuse, expliquant ainsi les caractéristiques phénotypiques des tumeurs SDHx. L'extinction épigénétique apparaît particulièrement sévère dans tumeurs mutées sur SDHB, ce qui pourrait expliquer leur malignité. Enfin, des mutations inactivant la fumarate hydratase (FH) ont été identifiées dans la seule tumeur hyperméthylée sans mutation SDHx.

Afin d'élucider le mécanisme reliant mutations SDHx et méthylation de l'ADN, nous avons inactivé le gène Sdhb dans des cellules chromaffines de souris immortalisées, ce qui a également conduit à une hyperméthylation de l'ADN. Les cellules Sdhb-/- présentent une accumulation de succinate, un inhibiteur compétitif de dioxygénases dépendantes du 2-oxoglutarate, associée à un excès notable de 5-méthylcytosine et de méthylation des histones. Ainsi, l'inactivation de la SDH altère le processus de déméthylation oxydative en inhibant les déméthylases des histones et la famille TET d'hydroxylases des 5-méthylcytosines. Enfin, nous avons montré que les cellules Sdhb-/- présentent un phénotype migratoire, qui est inhibé par un traitement antiméthylant à la decitabine. Nos résultats démontrent que les mutations SDHx induisent un phénotype hyperméthylateur dans les paragangliomes, clarifiant le rôle suppresseur de tumeur de la SDH, et mettant en exergue l'interaction entre le cycle de Krebs, les modifications épigénétiques et le cancer.

**Mots-clefs :** Epigénétique, Métabolisme, cancer

# RECUEIL DES POSTERS

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

Congrès et Expositions de Bordeaux - allée Louis Ratabou - 33300 Bordeaux



# Communications Affichées

## Posters

## Chromosomes, gènes et cancer

A001/#18

**Liens entre mutations et cancers. Les déformations de l'hypothèse du phénotype mutateur. Plaidoyer pour un abandon du paradigme erroné du caretaker et pour un retour aux principes de base de la théorie de l'évolution.**

Nicolas JANIN (1), Jean-François Vanbellinghen (2)

1. Service de Génétique Humaine, Cliniques universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique  
2. Biologie Moléculaire, Institut de Pathologie et de Génétique, GOSELIES, Belgique

**Auteur correspondant :** JANIN Nicolas (nicolas.janin@uclouvain.be)

Les cancers sont des maladies darwiniennes par excellence. En paraphrasant Richard Dawkins, on peut dire que la cancérogenèse est sous-tendue par la sélection non aléatoire de mutations aléatoires. Assez simple à raconter a posteriori, quand les mutations acquises sont connues, le scénario de la cancérogenèse ne peut jamais être écrit à l'avance. Au moins deux obstacles majeurs se dressent sur le chemin de la cellule normale vers le cancer. Le premier est dû au fait que le taux de mutation de base est si bas dans les cellules normales qu'il pourrait ne pas suffire à générer la diversité entre cellules nécessaire à l'évolution. Cet obstacle a été surmonté par l'hypothèse faisant de l'acquisition d'un phénotype mutateur une étape nécessaire de la cancérogenèse. Cette hypothèse soulève le deuxième obstacle : le constat que les cellules meurent de l'accumulation de mutations aléatoires.

Nous voudrions ici mettre en garde contre plusieurs concepts simples et séduisants mais erronés introduits au cours des 20 dernières années pour guider les non-spécialistes perdus dans les liens complexes entre mutations et cancers. Le plus célèbre est sûrement le concept du caretaker, paradigme d'une variété d'antioncogène agissant de manière indirecte. Aujourd'hui enseigné dans de nombreux manuels introduisant les bases théoriques de l'oncogénétique, ce concept a été repris sous diverses formes qui constituent toute une gamme de variations sur la thèse selon laquelle le cancer découlerait logiquement de l'accumulation de mutations. Cette idée simple est hélas entachée d'une erreur téléologique : les mutations aléatoires ne peuvent pas être animées d'un projet de transformation des cellules dans lesquelles elles surgissent ! Les auteurs commettent ici l'erreur de mélanger deux principes bien séparés de la théorie de l'évolution : 1- la nécessité de mutations au niveau de la population ; 2- l'acquisition d'un avantage sélectif au niveau cellulaire.

Une autre erreur conceptuelle répandue est celle de l'instabilité génétique « trop forte » qui serait incompatible avec la cancérogenèse, comme si le phénotype mutateur était léthal en lui-même, alors que c'est en réalité le fardeau des mutations accumulées qui finit par le devenir. Autre erreur téléologique, cette confusion efface absurdement le temps et le hasard de la théorie de l'évolution.

Nous tenterons de comprendre le phénoménal succès éditorial de ces concepts incompatibles avec les bases de la théorie de l'évolution. Illogiques, inutiles et trompeurs, leur diffusion est telle qu'ils constituent de véritables obstacles conceptuels à l'interprétation de la réalité. Nous montrerons dans un autre exposé comment les faits connus sur les cancers MSI-H et sur le syndrome de Lynch, apparemment absurdes et dénués de sens dans le cadre de ces pseudo-concepts, deviennent tout à coup évidents lorsqu'on les interprète à l'aide d'un nouveau concept de cancérogenèse respectueux des principes de base de la théorie de l'évolution.

**Mots-clefs :** cancérogenèse, phénotype mutateur, théorie de l'évolution

## Chromosomes, gènes et cancer

A002/#51

**ETUDE DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES DES HISTONES: ROLE DE LA TRIMETHYLATION DE LA LYSINE 27 DE L'HISTONE H3 DANS LE CANCER DE LA PROSTATE**

Marjolaine Ngollo (1), Aslihan Dagdemir (2), Frédérique Penault-Llorca (3), Jean-Paul Boiteux (4), Laurent Guy (4), André Lebert (5), Yves-Jean Bignon (6), Dominique Bernard-Gallon (6)

1. Département D'Oncogénétique CBRV, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France  
2. CBRV, Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France  
3. ERTICA EA 4677, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France  
4. Département d'Urologie, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, France  
5. Institut Pascal UMR 6602 CNRS/UBP, Université Blaise Pascal, Aubière, France  
6. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** Bernard-Gallon Dominique (dominique.bernard-gallon@cjp.fr)

Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez l'homme. Il repose sur des altérations génétiques et épigénétiques. Les principales altérations épigénétiques sont la méthylation de l'ADN et les modifications des histones. Ces altérations épigénétiques jouent un rôle prépondérant dans la carcinogenèse prostatique.

Le but de cette étude est d'établir une corrélation entre la proportion de marques H3K27me3 sur les gènes EZH2, RAR $\beta$ 2, ERa, SRC3, RGMA et PGR et le score de Gleason. Pour cela, 71 biopsies de prostate saine et 52 biopsies de patients ayant développé un adénocarcinome de la prostate ont permis de déterminer la proportion de marques H3K27me3 par ChIP-qPCR et de quantifier l'expression de ces gènes par RT-qPCR. Les résultats ont ensuite été confirmés par western-blot. Une analyse de variance (ANOVA) suivie du test de Bonferroni a servi à l'analyse statistique des résultats.

Les résultats obtenus ont permis de discriminer deux groupes de gènes. Un premier groupe de gènes RAR $\beta$ 2, ERa, RGMA et PGR qui présentent une forte proportion de marques H3K27me3 au niveau de leurs promoteurs dans le groupe de patients ayant un adénocarcinome de la prostate comparé au groupe de patients sains et un deuxième groupe de gènes, EZH2 et SRC3 qui ont peu de marques H3K27me3 dans le groupe de patients ayant un adénocarcinome de la prostate comparé au groupe de patients sains. L'augmentation des marques H3K27me3 sur RAR $\beta$ 2, ERa, RGMA et PGR est corrélée positivement avec l'agressivité de la maladie. En parallèle, l'expression des gènes RAR $\beta$ 2, ERa, RGMA et PGR est diminuée aussi bien au niveau ARNm qu'au niveau protéique dans les adénocarcinomes de prostate comparé aux tissus sains. Les gènes EZH2 et SRC3 sont surexprimés dans les cancers de la prostate. Nos résultats suggèrent qu'il y a une association entre l'augmentation des marques H3K27me3 sur les gènes RAR $\beta$ 2, ERa, RGMA et PGR et leur répression dans les cancers de la prostate.

Ainsi, toute stratégie visant à la déméthylation des histones par des drogues pharmacologiques, telle que l'utilisation des inhibiteurs d'histone méthyltransférase peut être considérée comme piste thérapeutique dans le cancer de la prostate.

**Mots-clefs :** Cancer de la prostate, Epigénétique, H3K27me3



## Chromosomes, gènes et cancer

A003/#88

### Implication du locus FOXE1 dans les formes familiales de carcinomes non-médullaires de la thyroïde

Elena Bonora (1), Cosmeri Rizzato (2), Chiara Diqigiovanni (1), Tiphaine Oudot-Mellakh (3), Daniele Campa (2), Manuela Vargiolu (4), Mickaël Guedj (5), The NMTC consortium, James D. McKay (6), Giovanni Romeo (1), Federico Canzian (2), Fabienne Lesueur (6,7)

1. Unit of Medical Genetics, Department of Medical and Surgical Sciences, University of Bologna, Bologne, Italie
2. Genomic Epidemiology Group, German Cancer Research Center, Heidelberg, Allemagne
3. INSERM, U945, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Health Sciences and Technologies, Interdepartmental Center for Industrial Research, University of Bologna, Bologne, Italie
5. Departement de Biostatistiques, Pharnext, Paris, France
6. Genetic Cancer Susceptibility, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
7. INSERM, U900, Institut Curie/Mines ParisTech, Paris, France

**Auteur correspondant :** Lesueur Fabienne (fabienne.lesueur@curie.fr)

L'incidence des cancers de la thyroïde est de l'ordre de 0,5 à 5 pour 100 000 personnes. Les tumeurs thyroïdiennes sont représentées par une large gamme de lésions allant des tumeurs bénignes bien différenciées aux tumeurs malignes anaplasiques. Ces tumeurs dérivent de deux types cellulaires. Les cellules C sont à l'origine des Carcinomes Médullaires de la Thyroïde (CMT), aujourd'hui bien caractérisés (des mutations confèrent au gène RET un pouvoir oncogène). Les Carcinomes Non-Médullaires de la Thyroïde (CNMT) dérivent eux des cellules folliculaires. Les CNMT représentent 90% des cancers thyroïdiens et sont essentiellement représentés par les Carcinomes Papillaires de la Thyroïde (CPT). Des facteurs environnementaux tels que des irradiations externes, les apports en iode, des facteurs hormonaux ou des antécédents de maladies thyroïdiennes bénignes constituent des facteurs de risque pour le cancer de la thyroïde mais 5% des CNMT ont une composante héréditaire certaine. C'est d'ailleurs un des cancers pour lesquels le risque familial est le plus élevé (RF=8,6). À la différence des CPT sporadiques qui sont généralement de bon pronostic, les CPT familiaux sont souvent plus agressifs et multifocaux. A la fin des années 90, les analyses de liaison génétique ont permis d'identifier plusieurs régions chromosomiques impliquées dans la prédisposition familiale, mais des mutations germinales fortement pénétrantes n'ont pu être caractérisées. Plus récemment, des études pangénomiques (GWAS) et des approches « gènes candidats » ont identifié des SNPs fréquents dans la population associés au risque de CNMT sporadique. Nous avons vérifié l'implication de ces SNPs dans les formes héréditaires du CNMT. Au total, 23 SNPs situés dans 11 régions candidates du génome ont été étudiés chez 672 sujets issus de 133 familles présentant au moins deux sujets atteints d'un CNMT et identifiées par le consortium international NMTC. Les analyses statistiques ont été réalisées avec les méthodes FBAT (Family-Based Association Tests), MQLS (Modified Quasi-Likelihood Score) et LNM (logistic-normal models). Nous avons ainsi mis en évidence une association significative entre le CNMT familial et des SNPs situés au locus 9q22.33 près du gène FOXE1 codant le facteur de transcription TTF2 (Thyroid Transcription factor 2). Un rôle majeur des autres régions chromosomiques testées a été exclu dans le CNMT familial. Des études fonctionnelles ont montré que certains polymorphismes de FOXE1, ont un impact fonctionnel sur l'activité du facteur de transcription ; cependant dans notre étude ces polymorphismes ne semblent pas être les variants causaux. De plus, le reséquençage de l'unique exon codant du gène FOXE1 n'a pas permis l'identification de nouveaux variants potentiellement délétères dans ce gène ce qui suggère que d'autres altérations génétiques au niveau de la région 9q22.33 sont impliquées dans l'étiologie de ce cancer.

**Mots-clefs :** Nonmedullary thyroid carcinoma, Genetic predisposition, Association study

## Chromosomes, gènes et cancer

A004/#122

### Surexpression de la protéine PAR-3 dans le carcinome rénal à cellules claires associée à un mauvais pronostic

Frédéric Dugay (1), Xavier Le Goff (2), Franck Chesnel (2), Grégory Verhoest (3), Florence Jouan (2), Karim Bensalah (3), Catherine Henry (1), Cécile Vigneau (4), Nathalie Rioux-Leclercq (5), Yannick Arlot-Bonnemains (2), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (1)

1. Cytogénétique, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
2. CNRS-UMR6290, Université de Rennes1, Rennes, France
3. Urologie, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
4. Néphrologie, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
5. Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France

**Auteur correspondant :** Dugay Frédéric (frederic.dugay@univ-rennes1.fr)

Les carcinomes rénaux représentent environ 3% des cancers chez l'adulte. Les plus fréquents parmi ces tumeurs sont les carcinomes rénaux à cellules claires (ccRCC) (70% des cas). Selon des critères cliniques et histologiques, nous avons sélectionné deux lignées cellulaires R-180 et R-305 établies à partir de prélèvements chirurgicaux de ccRCC de patients dont l'évolution clinique était défavorable pour le patient R-180 (survie de 1 an) et favorable pour le patient R-305 (survie de 7 ans). Nous avons analysé les profils cytogénétiques des deux lignées cellulaires et recherché des marqueurs d'intérêt. Le caryotype en bandes R et le caryotype multi-couleur ont ainsi été établis. L'analyse des déséquilibres génomiques a été complétée par analyse en CGH-array puis confirmée par FISH. Les cellules R-180 et R-305 sont respectivement diploïdes et hypotétraploïdes. Ces deux lignées présentent des déséquilibres dont, certains sont communs et d'autres spécifiques de l'une ou l'autre des lignées. Parmi les déséquilibres communs, on distingue la perte d'une copie du gène VHL, la perte d'un chromosome 14 et la perte du gène p16. Parmi ceux distincts, les cellules R-180 présentent une perte d'un chromosome 4, une perte du bras court d'un chromosome 9 et une amplification du gène PARD3. Cette amplification est associée à la surexpression de la protéine correspondante PAR-3 et à des modifications de l'organisation du cytosquelette. La diminution de l'expression de PAR-3 par transfection de siRNA dans les cellules R-180 restaure l'organisation du cytosquelette et réduit les capacités de migration cellulaire par rapport aux cellules non transfectées. L'analyse en immunohistochimie d'une cohorte de 96 patients atteints de ccRCC a montré une corrélation significative entre la surexpression de PAR-3 dans la tumeur primitive et un pronostic défavorable. Nos résultats suggèrent un rôle de PAR-3 dans l'agressivité clinique du carcinome rénal à cellules claires possiblement en favorisant la migration cellulaire.

**Mots-clefs :** PAR-3, Carcinome rénal à cellules claires, Aggressivité clinique

## Chromosomes, gènes et cancer

A005/#138

### Rs738409 (gène PNPLA3) et prédiction du risque de survenue du carcinome hépatocellulaire chez les patients cirrhotiques

Michel Beaugrand (1), Nathalie Charnaux (2), Nathalie Ganne-Carrié (1), Erwan Guyot (2), Christelle Laguillier (2), Abdellah Mansouri (3), Richard Moreau (3), Pierre Nahon (1), Pierre Rufat (4), Angela Sutton (2), Jean-Claude Trinchet (1)

1. Service d'hépatogastroentérologie, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
2. Service de Biochimie, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
3. INSERM U773, Centre de Recherche Bichat Beaujon CRB3, Université Paris 7, Paris, France
4. Unité de biostatistiques, Hôpital La pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Guyot Erwan (erwan.guyot@hotmail.fr)

**Introduction:** Plusieurs études d'associations pangénomiques puis des études cas-témoins ont montré une association entre le variant génétique rs738409G du gène PNPLA3 et le risque de constitution d'une cirrhose du foie de différentes étiologies. Notre objectif était d'évaluer l'influence de ce polymorphisme sur le risque de survenue du carcinome hépatocellulaire (CHC) dans deux cohortes longitudinales distinctes de patients atteints de cirrhose ainsi que sa possible utilité dans un modèle de prédiction du risque de CHC.

**Méthodes:** Le génotypage du rs738409 a été effectué pour 279 patients atteints de cirrhose d'origine alcoolique et 253 patients atteints de cirrhose liée au virus de l'hépatite C (VHC). Ces patients sélectionnés ont été suivis régulièrement pour le risque de CHC. L'influence du génotype rs738409 sur la survenue du cancer du foie a été évaluée selon la méthode de Kaplan-Meier, après une analyse multivariée selon le modèle de Cox.

**Résultats :** Chez les patients atteints de cirrhose liée au VHC, le génotype rs738409 n'a pas d'influence sur le risque de développement du CHC (logrank = 0,7), sur la mortalité (log -rank = 0,2) ou sur la réponse virologique prolongée (log -rank = 0,3). Inversement, chez les patients atteints de cirrhose alcoolique, le génotype (GG) pour le polymorphisme rs738409 était un facteur de risque indépendant de survenue du CHC (HR = 1,72 [ 1,21 à 2,45 ], logrank = 0,002) comme l'étaient aussi l'âge avancé, le sexe masculin, et un IMC élevé. La combinaison de ces caractéristiques cliniques et biologiques a permis la stratification de cette population en trois groupes à risque progressif de CHC avec une incidence cumulative à 6 ans allant de 2,4 % (groupe à risque faible, n = 41), 11,4% (groupe à risque intermédiaire, n = 158) et 46,2% (pour le groupe à risque élevé, n = 80) (log-rank <0,0001).

**Conclusion :** Cette étude fournit des données essentielles qui affirment l'influence du génotype rs738409 (GG) sur la survenue d'un CHC chez les patients atteints de cirrhose alcoolique. Sa combinaison avec les caractéristiques cliniques et biologiques permet d'affiner la sélection des patients à risque plus élevé de développer un cancer du foie.

**Mots-clefs :** SNP, hépatocarcinome, cirrhose

## Chromosomes, gènes et cancer

A006/#186

### Mélanomes chez le chien: modèles spontanés pour la génétique et la thérapie des mélanomes chez l'Homme

Edouard cadieu (1), Marc Gillard (1), Clotilde De Brito (1), Jérôme Abadie (2), Béatrice Vergier (3), Anne Sophie Guillory (1), Patrick Devauchelle (4), Frédérique Degorce-Rubiales (5), Laëtita Lagoutte (1), Benoit Hedan (1), Marie-Dominique Galibert (1), Catherine André (1)

1. CNRS, UMR6290, Université de Rennes 1, Institut de génétique et développement de Rennes, Rennes, France
2. AMaROC, ONIRIS, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'alimentation, Nantes, France
3. Service de Pathologie, CHU Bordeaux et Université bordeaux Segalen, Bordeaux, France
4. MICEN VET, Europarc, Creteil, France
5. Laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest, LAPVSO, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Andre Catherine (catherine.andre@univ-rennes1.fr)

L'augmentation du nombre de cas de mélanomes et de la mortalité associée est un réel problème de santé publique. Les mélanomes, dans leurs formes avancées, inopérables ou métastatiques, présentent généralement un redoutable pronostic comme l'atteste le taux de mortalité de plus de 80%. Il existe de nombreux types de mélanomes, cutanés, acraux, muqueux ou oculaires, qui présentent des fréquences différentes en fonction des populations. Le challenge pronostic et thérapeutique réside dans la complexité de ces différents types de mélanomes et dans l'identification des gènes et voies métaboliques impliquées dans ces types. Nous proposons le chien comme modèle pour des études génétique et thérapeutique des mélanomes. En effet, les mélanomes canins sont spontanés (non induits) et comme chez l'Homme, ils doivent leur apparition à une composante génétique et environnementale, qui peut être recherchées plus facilement chez le chien que chez l'Homme.

Afin de caractériser les homologues et les différences des types de mélanomes entre le chien et l'Homme, nous avons analysé les données épidémiologiques de 2350 tumeurs mélanocytaires, ainsi que les données cliniques, histopathologiques et génétiques de 150 mélanomes chez le chien. Les mélanomes canins sont trouvés aux mêmes localisations anatomiques que chez l'Homme (peau, muqueuses, œil), avec des fréquences et des sévérités différentes. Certaines races de chiens sont particulièrement à risque pour certains types de mélanomes, reflétant des prédispositions génétiques spécifiques. Par exemple, les Caniches développent des mélanomes buccaux, alors que les Beaucerons ou certains terriers, seront plutôt atteints de mélanomes cutanés (unguéaux et digités). L'analyse histologique montre que la grande majorité des mélanomes est intradermiques chez le chien et ils peuvent être comparés à 4 sous-types humains. Afin de proposer une classification histogénétique basée sur la classification humaine, nous avons recherché la présence de mutations somatiques rencontrées chez l'Homme. Nous montrons que les mélanomes canins buccaux présentent des mutations des gènes NRAS et PTEN, aux mêmes hotspots que chez l'Homme. Nous proposons les mélanomes canins comme de bons modèles d'études de différents types de mélanomes humains, plus particulièrement les mélanomes muqueux ou acraux. Ces données épidémiologiques, cliniques et histologiques montrent que les voies impliquées chez le chien seraient essentiellement non UV dépendantes. Nous avons collecté plus de 500 échantillons sanguins de chiens atteints, dans des races prédisposées, ainsi que 250 tissus tumoraux et tissus sains de mélanomes buccaux et cutanés. La recherche des facteurs génétiques et environnementaux des mélanomes canins permettra de mieux comprendre les voies métaboliques impliquées et de proposer des modèles homologues pour des essais cliniques ; ainsi ces recherches bénéficieront aux deux espèces.

**Mots-clefs :** mélanome, chien, thérapie

## Chromosomes, gènes et cancer

A007/#212

### Intérêt du modèle chien pour l'étude de cancers hématopoïétiques chez l'Homme : exemple du sarcome histiocytaire et des lymphomes chez le Bouvier bernois

Jérome Abadie (1), Catherine André (2), Guillory Anne Sophie (2), Nadine Bothereil (2), Edouard Cadieu (2), Clotilde De Brito (2), Thomas Derrien (2), Patrick Devauchelle (3), Benoît Hédan (2), Christophe Hitte (2), Laëtitia Lagoutte (2), Frédérique Nguyen (1), Mélanie Rault (2), Ronan Ulvè (2)

1. ONIRIS, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Nantes, France
2. UMR6290, CNRS, université Rennes 1, Institut de génétique et développement de Rennes, Rennes, France
3. Centre de Cancérologie vétérinaire, MICEN Vet, Creteil, France

**Auteur correspondant :** Hédan Benoît (benoit.hedan@univ-rennes1.fr)

Avec plus de 400 races de chiens sélectionnées par l'Homme, nous disposons d'isolats génétiques, dans lesquels ségrègent des maladies spécifiques avec de très fortes fréquences, dont des cancers propres à certaines races. Ceux-ci sont pour la plupart homologues sur les plans clinique, histologique et de réponse aux traitements. De plus, l'Homme et le chien partagent le même environnement, ce qui fait du chien un modèle unique pour identifier les facteurs génétiques et environnementaux impliqués dans ces cancers. L'accès à un grand nombre de prélèvements, le chien étant l'animal le mieux suivi médicalement, et la connaissance des liens familiaux entre les chiens atteints sont des atouts majeurs pour les analyses génétiques.

Nous étudions la race Bouvier Bernois, fortement prédisposée au développement de cancers hématopoïétiques retrouvés chez l'Homme : certains sous-types de lymphomes et le sarcome histiocytaire (SH), cancer très rare chez l'Homme (Abadie et Hédan et al., 2009). Cette race canine se trouve être un modèle de choix pour identifier les facteurs génétiques de ces cancers (mutations prédisposantes et somatiques). Pour ce faire, nous avons collecté des échantillons sanguins (>2200) et tissulaires (>900) ainsi que les informations généalogiques de familles de Bouviers bernois atteints via la Biobanque CaniDNA du laboratoire (<http://dog-genetics.genouest.org>). Les études d'association génétique pour le SH (168 cas -147 contrôles) et pour le lymphome (53 cas - 167 contrôles) ont permis d'identifier des loci d'intérêt pour ces cancers.. Un de ces loci du SH canin (CFA11) est orthologue à la région 9p21 humaine, impliquée dans de nombreux cancers humains (Shearin et al. 2012). Ce locus ainsi que 2 autres sont en cours de séquençage par NGS, ce qui permettra d'explorer ces régions et de déterminer les allèles liés au SH et/ou au lymphome.

Concernant les altérations somatiques liées à la progression tumorale, l'analyse par CGH de 104 cas de SH montre de fréquentes délétions impliquant entre autres P16 et TP53 (Hédan et al., 2011). Des analyses de RNAseq ont permis de mettre en évidence des gènes mutés dans le SH et les lymphomes canins. Notamment le gène TP53 qui est fréquemment muté avec les mêmes types de mutation et les mêmes hotspots exoniques que chez l'homme. Ce résultat souligne la forte homologie entre les altérations somatiques Homme/chien de ces cancers hématopoïétiques et renforce l'intérêt d'utiliser le modèle canin pour identifier de nouvelles altérations somatiques, impliquées dans le développement tumoral du SH et des lymphomes canins.

L'intégration des données génétiques germinales et somatiques permettra une meilleure compréhension des voies métaboliques impliquées dans le développement tumoral. La transposition de ces résultats à la médecine humaine permettra de proposer des essais thérapeutiques chez le chien bénéficiant à l'Homme et au chien.

**Mots-clefs :** Modèle chien, Sarcome histiocytaire, Lymphomes

## Chromosomes, gènes et cancer

A008/#243

### Identification du réarrangement du gène ALK dans les cancers du poumon non à petites cellules, à partir de prélèvements cytologiques.

Elise Kaspi (1, 7), Estelle Balducci (2), Nathalie Banzet (1), John Boudjarane (3), Stéphane Garcia (4), Marina Lafage (3), Pascale Tomasini (5), Sophie Laroumagne (6), Hélène Zattara (3), Pierre Cau (1, 7), Andrée Robaglia-Schlupp (1, 7), Patrice Roll (1, 7)

1. Laboratoire de Biologie Cellulaire, Hôpital Timone Enfants, AP-HM, Marseille, France
2. INSERM UMR\_S1076, Faculté de Pharmacie, Aix Marseille Université, Marseille, France
3. Laboratoire de Cytogénétique onco-hématologique, Hôpital Timone Enfants, AP-HM, MARSEILLE, France
4. Laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital Nord, AP-HM, Marseille, France
5. Service d'Oncologie multidisciplinaire et Innovations thérapeutiques, Hôpital Nord, AP-HM, Marseille, France
6. Service d'Oncologie Thoracique -Maladies de la Plèvre- Pneumologie interventionnelle, Hôpital Nord, AP-HM, Marseille, France
7. INSERM UMR\_S910, Faculté de Médecine Timone – Aix Marseille Université, Marseille, France

**Auteur correspondant :** ROLL Patrice (patrice.roll@univ-amu.fr)

La protéine ALK (Anaplastic lymphoma kinase) est un récepteur à activité tyrosine kinase dont le gène est localisé sur le bras court du chromosome 2 (2p23). Initialement, des translocations d'ALK ont été mises en évidence dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules et dans certains lymphomes T. Plus récemment, des remaniements d'ALK ont été décrits dans les carcinomes bronchiques non à petites cellules (CBNPC), majoritairement avec le gène EML4 (Echinoderm Microtubule associated protein Like 4), localisé en 2p21. Ce réarrangement EML4-ALK a pour conséquence une activité tyrosine-kinase constitutive, due à la dimérisation du récepteur, indépendamment de la fixation du ligand. D'autres partenaires différents d'EML4 ont été identifiés avec une activation d'ALK équivalente.

Cette activité oncogénique est inhibée par une molécule, le crizotinib. Selon les données de la littérature, le réarrangement d'ALK est détecté chez 3 à 7% des patients atteints de CBNPC. La recherche systématique du remaniement d'ALK permet de définir une cible moléculaire favorisant un accès spécifique à une thérapeutique ciblée pour ces patients.

Cette étude propose d'identifier le réarrangement d'ALK dans les CBNPC à partir de liquides biologiques pour analyse cytologique par FISH. Cette analyse s'intègre dans l'étude du statut mutationnel de la tumeur, selon les recommandations de l'INCa.

Une étude prospective a été réalisée chez 23 patients atteints de CBNPC, à partir de différents liquides biologiques : 1 liquide céphalo-rachidien, 5 liquides pleuraux, 6 brossages bronchiques, 8 cytoponctions ganglionnaires, 1 lavage broncho-alvéolaire et 2 cytoponctions parenchymateuses. Le pourcentage de cellules malignes dans ces différents prélèvements variait de 5 à 90% (moyenne de 42%, +/-25%). L'analyse FISH a été réalisée sur noyaux interphasiques à partir de spots de cyocentrifugation, à l'aide d'une sonde « break-apart ».

Dans cette série, un réarrangement d'ALK a été détecté (4%), dans un liquide pleural renfermant 11% de cellules malignes. 8% des cellules totales observées ont présenté une anomalie cytogénétique : augmentation du nombre de copies associée à un réarrangement d'ALK (séparation des signaux rouge/vert). Ce résultat a par ailleurs été confirmé sur un prélèvement analyse histologique (biopsie trans-bronchique) du même patient. L'analyse de cellules entières, non incluses en paraffine, semble offrir un avantage en améliorant la sensibilité de la technique, par rapport aux analyses sur coupes de tissus.

Nos résultats permettent de valider la recherche du remaniement du gène ALK par FISH sur cellules dissociées de différents liquides biologiques, et est applicable à des liquides renfermant peu de cellules malignes. Cette technique pourrait par ailleurs être élargie à la

recherche d'autres réarrangements (par exemple du gène ROS-1) dans les CBNPC.

**Mots-clefs :** Cancer du poumon, ALK, liquides biologiques

## Chromosomes, gènes et cancer

A009/#244

### Analyses mutationnelles à partir de prélèvements cytologiques de cytoponction écho-endoguidée (EBUS) d'adénopathies hilaires et médiastinales.

Elise KASPI (1), Thomas VANDERMOORTELE (2), Nathalie BOITANO (1), Isabelle NANNI-METELLUS (3), Véronique SECQ (4), Sophie LAROUAGNE (2), Patrice ROLL (1), Elisa ROCA (2), Fabrice BARLESI (5), Hervé DUTAU (2), Philippe ASTOUL (2), Andrée ROBAGLIA-SCHLUPP (1)

1. Laboratoire de Biologie Cellulaire, Hôpital Timone Enfants, AP-HM, MARSEILLE, France

2. Service d'Oncologie Thoracique -Maladies de la Plèvre- Pneumologie interventionnelle, Hôpital Nord, AP-HM, MARSEILLE, France

3. Laboratoire de Transfert d'Oncologie Biologique, Hôpital Nord, AP-HM, MARSEILLE, France

4. Laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital Nord, AP-HM, MARSEILLE, France

5. Service d'Oncologie multidisciplinaire et Innovations thérapeutiques, Hôpital Nord, AP-HM, MARSEILLE, France

**Auteur correspondant :** ROBAGLIA-SCHLUPP Andrée  
(Andree.ROBAGLIA@ap-hm.fr)

La détection d'une mutation activatrice dans le gène EGFR (codant pour le récepteur du facteur de croissance épithélial EGF) permet de définir une cible moléculaire permettant un accès spécifique aux thérapies ciblées pour des patients atteints de cancer du poumon à un stade avancé. Il est en de même pour BRAF (codant pour la protéine B-Raf) dans le mélanome métastatique.

L'objectif de ce travail a été de valider la faisabilité des analyses de biologie moléculaire à partir de prélèvements cytologiques de cytoponctions écho-endoguidées (EBUS) d'adénopathies médiastinales réalisées dans le bilan d'extension de cancer de du poumon non à petites cellules et de mélanome.

Le statut mutationnel des gènes EGFR, KRAS, BRAF et PI3KCA ont été explorés dans cette étude prospective (mars 2011 - septembre 2012) qui a concerné 41 patients métastatiques, 40 cancers pulmonaires non à petites cellules et 1 mélanome.

Une fraction de chaque prélèvement a été utilisée pour l'analyse cytologique conventionnelle.

A partir de l'autre fraction, les analyses de biologie moléculaire ont été réalisées par séquençage direct en ciblant les exons 18 à 21 de l'EGFR, l'exon 2 de KRAS, l'exon 15 de BRAF et les exons 9 et 20 de PI3KCA.

L'analyse mutationnelle complète a été possible pour tous les patients à l'exception d'une analyse de KRAS pour un seul patient. Des mutations ont été détectées pour 11 patients (26,8%), ainsi réparties : 6 pour KRAS (p.G12C/D/V ou p.G13R), 3 pour EGFR (p.E746\_A750del), 1 pour BRAF (p.V600E), 1 pour PI3KCA (p.Q546E).

Pour 7 patients (17,1%), la comparaison des résultats obtenus à partir de prélèvements histologiques et ceux présentés ici, met en évidence une parfaite corrélation.

De plus, la technique utilisée (prélèvements à l'état frais et congelés sous forme de culots cellulaires) permet d'obtenir une qualité d'ADN optimale, sans parasitage par la paraffine.

Par ailleurs, la quantité d'ADN extrait étant toujours en excès, il est possible d'étendre l'exploration du statut mutationnel de la tumeur, et de pouvoir ainsi répondre aux recommandations de l'INCa.

Nos résultats permettent de valider l'analyse mutationnelle en biologie moléculaire par séquençage direct à partir de prélèvements cytologiques de cytoponction écho-endoguidée d'ADP médiastinales et hilaires et de l'étendre à d'autres liquides biologiques.

**Mots-clefs :** Thérapie ciblée, Analyses mutationnelles, Cytoponction ganglionnaire



## Chromosomes, gènes et cancer

A010/#256

### Analyse par BAC des points de cassure dans les translocations réciproques et les insertions : une stratégie efficace pour identifier des gènes candidats dans les hémopathies myéloïdes.

Nathalie Douet-Guilbert (1), Etienne De Braekeleer (2), Audrey Basinko (1), Corinne Tous (1), Nadia Guéganic (3), Clément Bovo (3), Marie-Josée Le Bris (1), Frédéric Morel (1), Marc De Braekeleer (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CHRU Brest, Brest, France  
2. Division of Stem Cells and Cancer, German Cancer Research Center, Heidelberg, Allemagne  
3. Laboratoire de Cytogénétique, Faculté de Médecine, Brest, France

**Auteur correspondant :** De Braekeleer Marc (marc.debraekeleer@univ-brest.fr)

Depuis que les techniques de marquage ont été appliquées à l'analyse des anomalies chromosomiques dans les hémopathies malignes, plusieurs dizaines de points de cassure récurrents ont été identifiés, ce qui a permis, in fine, de localiser et de mettre en évidence un grand nombre de gènes impliqués dans la genèse et/ou la progression des hémopathies malignes. Cependant, le niveau de résolution obtenu n'est pas suffisamment fin pour permettre le clonage positionnel des gènes aux points de cassure. Dès lors, la mise à disposition des chercheurs de bibliothèques comme les Chromosomes Artificiels de Bactéries (Bacterial Artificial Chromosomes - BACs) a permis de développer une stratégie très efficace pour identifier des gènes candidats.

A ce jour, l'utilisation du caryotype standard suivie de l'étude en cytogénétique moléculaire avec des BACs reste la méthode de référence. Le caryotype en bandes R a été réalisé à partir des cellules de moelle osseuse des patients au diagnostic ou en rechute. Seuls les patients présentant une translocation réciproque ou une insertion isolée pour laquelle les gènes impliqués n'avaient pas encore été identifiés ont été retenus. Si un des points de cassure était situé dans une bande contenant un gène fréquemment impliqué dans les hémopathies malignes, une hybridation in situ fluorescente (FISH) était réalisée avec une sonde commerciale ciblant ce gène. Finalement, pour les points de cassure n'impliquant pas un gène déjà recensé, nous délimitons une région d'environ 15 Mb autour du point de cassure et identifions une série de BACs espacés de 1.5 à 2Mb à partir du « human genome browser database » (<http://genome.ucsc.edu/>). Une deuxième série de BACs chevauchants était alors utilisée pour raffiner le point de cassure. Tous les BACs ont été commandés sur le site <http://bacpac.chori.org/> et leur localisation validée sur métaphases normales.

Durant ces 14 dernières années, 15 patients présentant une hémopathie myéloïde associée à une translocation réciproque ou une insertion isolée ont été analysés au laboratoire de cytogénétique du CHRU de Brest. Treize translocations différentes [incluant une translocation récurrente t(10;17)(p15;q21)] et une insertion ont été identifiées. Les gènes ETV6 et RUNX1 étaient réarrangés chacun dans 3 translocations impliquant les bandes 5p13, 17q21 and 22q12 pour ETV6 et 2q34, 4p11 et 20q13.2 pour RUNX1. Le gène MLL était réarrangé dans une translocation [t(11;14)(q23;q32)] et une insertion [ins(11;X)(q23;q28q12)]. Un grand nombre de gènes candidats est connu pour être impliqué dans la régulation de la transcription notamment par remodelage de la chromatine (ex : NSD1, CHD6, MBTD1), d'autres dans l'organisation du cytosquelette (KIAA0284, FLNA), d'autres enfin dans la réparation de l'ADN (FEN1), la cohésion des chromatides sœurs (NIPBL1) et l'assemblage des microtubules (MAP2).

**Mots-clefs :** Chromosomes Artificiels de Bactéries, Gènes de fusion, Hémopathies myéloïdes

## Chromosomes, gènes et cancer

A011/#273

### Expression et méthylation du gène ZAC dans les adénomes hypophysaires sporadiques.

Morgane PERTUIT (1), Anne Laure GERMANETTI (1), Marily THEODOROPOULOU (2), Anne BARLIER (1)

1. Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU La Conception, Marseille, France  
2. Endocrinology, Max Planck Institute, Munich, Allemagne

**Auteur correspondant :** BARLIER Anne (anne.barlier@ap-hm.fr)

Le gène ZAC est un gène suppresseur de tumeur qui code pour un facteur de transcription en doigt de zinc capable de jouer un rôle antiprolifératif en induisant l'apoptose et l'arrêt du cycle cellulaire. Une sous-expression de ce gène est fréquemment retrouvée dans différents cancers humains. Les adénomes hypophysaires sporadiques (10% des tumeurs intracrâniennes) présentent une altération de la prolifération cellulaire et peuvent être divisés en deux groupes : les adénomes non fonctionnels non sécrétant (NFPA) et les adénomes fonctionnels comprenant notamment les adénomes somatotropes (GH). L'utilisation d'agonistes somatostatinerigiques (Octréotide) se liant préférentiellement au récepteur SSTR2 constitue le principal traitement pharmacologique des adénomes somatotropes. Ces agonistes s'avèrent en revanche peu efficaces dans le traitement des NFPA. Des travaux sur la lignée cellulaire GH3 ont mis en évidence l'implication de ZAC dans les effets antiprolifératifs induits par l'Octréotide. Récemment il a été montré dans ces cellules que ZAC pouvait réguler de manière positive la transcription du gène SSTR2.

Un des promoteurs de ZAC est soumis à l'empreinte. C'est lui qui contrôle l'expression du gène dans l'hypophyse, conduisant à une expression monoallélique de ZAC provenant de l'allèle paternel non méthylé.

Le but de notre travail a été de quantifier l'expression des transcrits de SSTR2 et de ZAC par RT-PCR dans une série d'adénomes somatotropes et de NFPA, puis de rechercher dans ces tumeurs des altérations de l'empreinte en analysant par pyroséquençage la méthylation de la région promotrice du gène ZAC.

Nous montrons que le gène ZAC est fortement exprimé dans la quasi-totalité des adénomes somatotropes analysés (n=15/17). De manière intéressante, nous mettons en évidence une corrélation positive entre les niveaux d'expression des transcrits de ZAC et ceux de SSTR2 (p < 0.04). Nous montrons à l'inverse une franche sous-expression du gène ZAC dans 38% des NFPA analysés (n=10/26) associée à une faible expression de SSTR2. Ces résultats démontrent l'existence de profils d'expression ZAC/SSTR2 différents entre adénomes somatotropes (forte expression) et NFPA (faible expression) qui pourraient expliquer les différences de sensibilité au traitement observées entre ces deux groupes de tumeurs.

L'analyse de la méthylation par pyroséquençage montre que l'hémi-méthylation de la région promotrice de ZAC reste conservée dans les NFPA. En revanche nous montrons une hypométhylation de cette zone dans 2 adénomes somatotropes exprimant fortement ZAC. Si l'empreinte du gène ZAC semble globalement conservée, ces résultats suggèrent que dans certains adénomes somatotropes une relâche de l'empreinte pourrait être à l'origine de la forte expression de ZAC retrouvée dans ces tumeurs.

**Mots-clefs :** ZAC, Adénomes Hypophysaires, Epigénétique

## Chromosomes, gènes et cancer

A012/#326

### Mise en évidence d'une trisomie partielle 3q23q29 constitutionnelle en mosaïque, impliquant le gène PIK3CA, chez une patiente présentant un syndrome de Cowden de type 5.

Isabelle Maystadt (1), Bernard Grisart (1), Benoît Parmentier (1), Marianne Crespin (2), Karin Dahan (1)

1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique
2. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique

**Auteur correspondant :** Maystadt Isabelle (isabelle.maystadt@ipg.be)

Le syndrome de Cowden est un syndrome de transmission autosomique dominante caractérisé par des hamartomes multiples et un risque accru de développer des tumeurs malignes (essentiellement cancers du sein, de l'endomètre et de la thyroïde). Dans sa forme classique, secondaire à des mutations du gène PTEN, ces symptômes peuvent être associés à une macrocéphalie, des trichilemmomes, et une papillomatose de la muqueuse orale.

Ce syndrome est hétérogène sur le plan génétique car des mutations du gène PTEN ne sont retrouvées que chez environ 25% des patients. Très récemment, des mutations constitutionnelles de type gain-de-fonction du gène PIK3CA ont été décrites chez 8 patients ayant présenté plusieurs cancers (sein, thyroïde, appareil urinaire). Chez la plupart d'entre eux étaient également rapportés une macrocéphalie, des polypes intestinaux, et des lésions bénignes du sein, de la thyroïde ou de l'utérus. Les lipomes et les signes cutanés typiques étaient moins constants (Orloff et al, *Am J Hum Genet*, 2013).

Nous rapportons ici le cas d'une patiente âgée de 50 ans, qui a présenté un carcinome papillaire de la thyroïde (variante folliculaire) à l'âge de 28 ans, une phylloïde de bas grade du sein gauche à 40 ans, et un hypernéphrome du rein droit à 48 ans. Elle ne présente pas de macrocéphalie, ni de lésions cutanées. L'étude des gènes PTEN et TP53 n'a pas mis de mutation en évidence chez cette patiente. Par contre, la recherche de microremaniement chromosomique par la technique des microarrays (Agilent ISCA 180K) a laissé suspecter une amplification en mosaïque de la région 3q23q29, impliquant le gène PIK3CA. La présence de cette trisomie partielle en mosaïque a été confirmée par la méthode FISH dans diverses lignées cellulaires de la patiente (leucocytes, muqueuse buccale, urines, sein, rein).

L'analyse des pièces de résection des tumeurs du sein et du rein a clairement démontré une augmentation de la proportion de cellules porteuses de la trisomie 3q26q29 dans les zones tumorales par rapport aux tissus sains adjacents. Cela n'a par contre pas pu être démontré pour le cancer de la thyroïde. De manière très intéressante, nous avons également constaté une amplification de la région 3q26q29 dans les zones tumorales du rein, observant 4 ou 5 signaux au sein de certaines lignées cellulaires.

L'hypothèse d'un diagnostic de syndrome de Cowden de type 5, secondaire à un gain de fonction du gène PIK3CA, a donc été suggérée chez cette patiente et le suivi préventif classiquement recommandé dans ce syndrome lui a donc été prescrit.

**Mots-clefs :** syndrome de Cowden, trisomie 3q23q29, PIK3CA

## Chromosomes, gènes et cancer

A013/#356

### Fonctions pléiotropes de la télomérase dans les lymphomes T cutanés primitifs

Edith Chevret (1), Laëtitia Andrique (1), Martina Prochazkova-Carlotti (1), Elodie Laharanne (2), Jacky Ferrer (1), David Cappellen (1), Yamina Idrissi (1), Anne Pham-Ledard (3), Pierre Dubus (1), Béatrice Vergier (4), Marie Beylot-Barry (3), Jean-Philippe Merlio (1)

1. EA2406, Histologie et Pathologie Moléculaire des Tumeurs, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux Cedex, France
2. Service de Biologie des Tumeurs, CHU Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac, France
3. Service de Dermatologie, CHU Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac, France
4. Service de Pathologie (Sud), CHU Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac, France

**Auteur correspondant :** Chevret Edith (edith.chevret@u-bordeaux2.fr)

Le raccourcissement progressif des télomères et l'activation de la télomérase sont considérés comme des mécanismes clés de l'immortalisation cellulaire et de la progression tumorale. L'évaluation de la longueur des télomères et l'activité de la télomérase ont été étudiées largement dans les tumeurs solides et les hémopathies. Une activité télomérase est observée dans plus de 90% des cancers. En revanche dans les lymphomes T cutanés primitifs (LTCP) très peu de données existent. Pour cette raison nous avons évalué l'impact de la longueur des télomères et de l'activité de la télomérase dans la lymphomagenèse des LTCP. Pour cela, nous avons utilisé des lignées cellulaires de LTCP et des cellules provenant de patients. La longueur des télomères a été évaluée par PCR quantitative et par FISH (Fluorescence In Situ Hybridisation) quantitative en interphase. L'activité de la télomérase a été mesurée par la technique de TRAP (Telomeric repeat amplification protocol).

Nous avons mis en évidence que les télomères sont plus courts dans les formes agressives de LTCP, plus particulièrement dans le syndrome de Sézary, comparés à des sujets sains de même âge. Nous avons également observé qu'une activité télomérase est présente dans tous les types de LTCP analysés mais absente dans les lymphocytes témoins. L'ensemble de ces résultats confrontés aux données cytogénétiques dans les LTCP suggère qu'il s'agit des cellules post-crise ayant délété des mécanismes de contrôle et réactivé la télomérase.

Pour mieux comprendre la fonction de la télomérase dans ces cellules de LTCP, nous avons modulé par des constructions lentivirales son expression dans des lignées cellulaires de LTCP. Nous avons ainsi montré que l'inhibition de la télomérase se traduisait par une diminution brutale de la prolifération cellulaire et conduisait à la mort cellulaire en s'accompagnant d'une augmentation des marqueurs de sénescence. En revanche la surexpression de la télomérase est associée à une augmentation de la prolifération cellulaire et à une augmentation des capacités clonogène et tumorigène des cellules infectées aussi bien in vitro que in vivo chez des souris immunodéficientes. Ces dernières observations laissent supposer qu'au-delà de sa fonction de maintien fonctionnel des télomères dans les cellules de LTCP, la télomérase exerce des fonctions pléiotropes oncogéniques. Ce modèle d'étude prometteur représente probablement des cibles potentielles de thérapies anti-télomérase visant à diminuer la viabilité des cellules, en particulier dans les LTCP agressifs.

**Mots-clefs :** longueur des télomères, activité de la télomérase, lymphomes T cutanés primitifs

## Chromosomes, gènes et cancer

A014/#396

### Le statut de méthylation de DGKI module la valeur pronostique de MGMT chez des patients atteints de glioblastomes et traités par radiochimiothérapie à base de témozolomide.

Amandine Etcheverry (1), Marc Aubry (2), Ahmed Idbaih (3), Elodie Vauléon (4), Yannick Marie (3), Philippe Menei (5), Dominique Figarella-Branger (6), Lucie Karayan-Tapon (7), Véronique Quillien (4), Marc Sanson (3), Marie de Tayrac (1), Jean-Yves Delattre (8), Jean Mosser (1)

1. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
2. Plate-forme Génomique Santé Biogenouest, Biosit, Rennes, France
3. Service de Neurologie 2- Mazarin, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Département de Biologie Médicale, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
5. Service de Neurochirurgie, CHU Angers, Angers, France
6. Service d'Anatomie Pathologie et de Neuropathologie, CHU Timone, Marseille, France
7. Laboratoire de Cancérologie Biologique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
8. Service de Neurologie 2- Mazarin, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Rennes, France

**Auteur correspondant :** Etcheverry Amandine (amandine.etccheverry@univ-rennes1.fr)

**Contexte :** Les facteurs pronostiques les plus fréquemment décrits dans le glioblastome (GBM) sont : l'âge, le type de chirurgie, l'indice de performance, le statut de mutation de IDH1 et le statut de méthylation de MGMT. Notre but est d'intégrer ces facteurs pronostiques cliniques et biologiques dans un nomogramme afin de prédire la survie des patients traités selon le protocole standard. Précédemment, nous avons montré que le statut de méthylation du promoteur de DGKI identifie des patients MGMT-méthylés non-répondeurs au traitement standard. Nous avons évalué, sur une cohorte indépendante, la valeur pronostique du statut de méthylation de DGKI.

**Méthodes :** 399 patients atteints de GBM et traités selon le protocole standard ont été rétrospectivement inclus dans l'étude. Les analyses de survie ont été réalisées sur deux populations : l'ensemble des patients inclus (population 1) et les patients MGMT-méthylés (population 2). L'analyse par le modèle de Cox a permis d'identifier les principaux facteurs pronostiques. Un nomogramme a été développé pour la population 1. La valeur pronostique du statut de méthylation de DGKI a été évaluée sur la population 1 et sur la population 2.

**Résultats :** La stratification de la population 1, basée sur le nomogramme, identifie deux groupes de risque (haut/bas) de médianes de survies significativement différentes. Nous avons validé la valeur pronostique du statut de méthylation de DGKI sur les patients MGMT-méthylés et nous avons démontré que le statut de méthylation de DGKI identifie 22% de patients non-répondeurs dans le groupe bas risque.

**Conclusions :** Nos résultats améliorent la stratification conventionnelle des GBM traités selon le protocole standard. Ces résultats pourront aider à l'interprétation des essais cliniques et, à l'avenir, améliorer le recrutement des patients.

**Mots-clefs :** Glioblastome, Survie, Méthylation de l'ADN

## Chromosomes, gènes et cancer

A015/#440

### Deux haplotypes impliquant NKG2A et NKG2D/MICB sont associés à la réponse à l'imatinib dans la leucémie myéloïde chronique

Heriberto Bruzzoni-Giovanelli (1), Jean-Michel Cayuela (2), Marc Delord (3), Emmanuelle Génin (4), François Guilhot (5), Joëlle Guilhot (6), Claude Preudhomme (7), Philippe Rousselot (8), François Sigaux (9)

1. Centre d'Investigation Clinique, Hôpital Saint Louis, Paris, France
2. Laboratoire Central d'Hématologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
3. Biostatistique, Université Paris 7, Paris, France
4. Génétique Humaine, CHU Brest, Brest, France
5. Inserm CIC 0802, CHU de Poitiers, Poitiers, France
6. Centre d'Investigation Clinique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
7. Laboratoire d'Hématologie, CHRU et Université de Lille Nord, Lille, France
8. Service d'Hématologie et d'Oncologie, Hôpital Mignot, Versailles, France
9. Laboratoire Central d'Hématologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France

**Auteur correspondant :** delord marc (mdelord@gmail.com)

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une néoplasie caractérisée par la transcription et la traduction du gène de fusion BCR-ABL au sein des cellules-souches hématopoïétiques. La LMC est traitée par inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) et la réponse au traitement est évaluée par quantification du transcrit BCR-ABL par RT-qPCR. La réponse moléculaire majeure (MMR) est une diminution du taux de transcrits de 3 logs par rapport à la valeur au diagnostic de 100%. Sous ITK, la réponse est variable : 25 à 35% des patients n'obtiennent pas de réponse optimale, c'est-à-dire, une MMR à 12 mois.

La pharmacocinétique de l'IM a été associée à des SNP (single nucleotide polymorphism) liés aux gènes du cytochrome p450 et des transporteurs ABC. Pour la pharmacocinétique, les données disponibles sont partielles et souvent contradictoires. Il a été montré in vitro que les ITK ont un effet immunosuppresseur alors qu'un effet immuno-activateur via une augmentation du nombre et de l'activité des cellules NK a été observé in vivo. Afin d'élucider le rôle des cellules NK dans la réponse aux ITK, 3 études ont été publiées récemment sur l'influence de SNP liés aux récepteurs KIR.

Afin d'approfondir cette question, nous avons réalisé une étude systématique de SNP associés aux gènes de la voie "NK cells mediated cytotoxicity" à l'aide d'une cohorte de 344 patients LMC sous IM 400 ou 600 mg/j. Nous avons utilisé le modèle Fine et Gray sur l'incidence cumulée de la MMR à 18 mois. Les compétiteurs sont les arrêts de traitement pour toxicité et la mort "toutes causes". Afin d'obtenir des résultats ajustés nous avons considéré aussi le score pronostique de Sokal et la dose journalière d'IM.

Ainsi, 446 SNPs associés à 67 gènes ont été étudiés. 5 SNP présentent un FDR 5% (Benyamini & Hockberg). 3 SNP liés au complexe NK (CNK) sur le chromosome (chr) 12 (gènes NKG2D et NKG2A) et 2 SNP liés au gène MICB dans le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH, chr 6). De forts déséquilibres de liaison ont permis de calculer des haplotypes aux 2 régions mises en évidence.

A-A-A au sein du CNK à une fréquence de 18% et 31% des patients en possèdent une copie au moins. Ses patients ont une probabilité significativement plus importante d'obtenir une MMR à 18 mois par rapport aux autres (67% vs. 50%,  $P \leq 1e-3$ ).

C-A au locus MICB à une fréquence de 36% et 57% des patients en possèdent une copie au moins. Ses patients ont une probabilité significativement plus faible d'obtenir une MMR à 18 mois par rapport aux autres (48% vs. 68%,  $P \leq 1e-3$ ).

Un modèle multivarié ajusté (dose et Sokal) montre en outre que les deux variables conservent la même significativité. ( $p \leq 1e-3$  dans tous les cas).

Notre étude montre que des paramètres immunogénétiques liés aux récepteurs/ligands des cellules NK influencent significativement la réponse à l'IM dans la LMC. Cette influence, variable selon les patients, s'exerce probablement via une restauration de l'immunosurveillance observée in vivo.

**Mots-clefs :** Pharmacogénétique de l'imatinib, médecine personnalisée, Leucémie myéloïde chronique, Cellules NK, immunosurveillance

## Chromosomes, gènes et cancer

A016/#457

### La longueur des télomères et l'instabilité génomique comme biomarqueurs prédictifs de la réponse au traitement néoadjuvant dans le cancer du sein triple négatif

Mathilde Gay-bellile (1,6), Eleonore Eymard-Pierre (1,6), Fabrice Kwiatkowski (2,6), Marie-Mélanie Dauplat (3,6), Maud Privat (4,6), Catherine Abrial (2,6), Patricia Combes (1,6), Gwendoline Soler (1,6), Yves Jean Bignon (4,6), Jean-Marc Nabholz (5,6), Philippe Vago (1,6), Frédérique Penault-Llorca (3,6) & Andreï Tchirkov (1,6).

1. Cytogénétique Médicale, Hôpital Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. Division Recherche Clinique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
3. Anatomie-Pathologie, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
4. Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
5. Oncologie Médicale, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
6. EA 4677, ERTICa, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** Gay-bellile Mathilde (mgay-bellile@orange.fr)

**Introduction.** Les carcinomes basal-like représentent 10 à 15 % des carcinomes invasifs du sein. En pratique clinique, ils sont identifiés par leur caractère triple négatif à l'immunophénotypage (récepteurs aux œstrogènes, à la progestérone et HER2 négatifs). Ces tumeurs, pour lesquelles il n'existe pas de thérapie ciblée, ont une évolution péjorative. Elles apparaissent particulièrement liées à l'instabilité génomique. En effet, ces tumeurs présentent un profil spécifique complexe en CGH-array qui associe de nombreuses pertes et gains de matériel génomique de faible amplitude. De plus, la dysfonction télomérique, pourrait également être un marqueur d'instabilité génomique.

**Objectif.** Identification de biomarqueurs prédictifs de la réponse aux chimiothérapies néoadjuvantes par l'étude des télomères et l'évaluation de l'instabilité génomique par CGH-array dans le but d'optimiser la prise en charge thérapeutique de ces tumeurs.

**Matériel et méthodes.** Une cohorte de 68 patientes atteintes de tumeurs triple négatives et traitées par chimiothérapie néoadjuvante a été étudiée (essais cliniques évaluant l'utilisation d'anti-EGFR couplés soit à des cures de FEC soit à des cures de taxanes seuls). Les ADN ont été extraits à partir des biopsies réalisées avant traitement. La réponse thérapeutique a été évaluée par les classifications pathologiques de Chevallier et de Sataloff. Nous avons quantifié la longueur des télomères par PCR quantitative en temps réel. L'instabilité génomique, quant à elle, a été étudiée grâce aux données obtenues par CGH-array (puce 8x60K, Agilent).

**Résultats.** Une longueur télomérique réduite est significativement associée aux tumeurs les plus agressives (évaluées par la classification TNM,  $p=0,039$ ) et plus particulièrement à l'existence d'un envahissement ganglionnaire ( $p=0,012$ ). Les télomères courts sont également corrélés de façon significative à une réponse histologique incomplète au traitement néoadjuvant (selon les classifications de Chevallier et de Sataloff,  $p<0,00001$ ). L'instabilité génomique dans ces tumeurs agressives et résistantes est plutôt de type gain de matériel. En effet, une réponse thérapeutique incomplète (évaluée par la classification de Chevallier) est associée à un nombre de gain de matériel plus important ( $p=0,055$ ) et à des gains de plus grande taille ( $p=0,0089$ ). Enfin, les tumeurs ayant des télomères courts sont également associées de façon significative à des gains de plus grande taille ( $p=0,0067$ ).

**Conclusions.** Le raccourcissement télomérique est retrouvé dans des tumeurs agressives et résistantes. Il a été décrit comme l'un des mécanismes impliqués dans les gains de matériels et les amplifications. Les tumeurs avec les télomères les plus courts, donc le génome le plus instable, sont associées à ces gains de matériel génomique. Au total, les paramètres télomériques et le profil d'instabilité génomique pourraient être des biomarqueurs prédictifs de la réponse thérapeutique.

**Mots-clefs :** Tumeurs du sein triple négatives, Instabilité génomique, Télomères



## Chromosomes, gènes et cancer

A017/#504

### Recherche du réarrangement BCR-ABL par hybridation in situ à fluorescence lors du diagnostic et du suivi de la leucémie myéloïde chronique : 1ère série marocaine

Yassamine Doubaj (1), Abdelhafid Natiq (2), Wiam Azour (3), Aziza Sbiti (4), Abdelaziz Sefiani (5)

1. Département de Génétique Médicale, Institut national d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Faculté des sciences, Université Mohammed V Agdal, Rabat, Maroc
3. Faculté des Sciences et Techniques, Université Hassan I, Settat, Maroc
4. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** Doubaj Yassamine (y.doubaj@gmail.com)

La leucémie myéloïde chronique est une néoplasie myéloproliférative caractérisée par la présence d'un marqueur cytogénétique qui est le chromosome Philadelphie. Ce chromosome 22 raccourci résulte d'une translocation réciproque t(9;22)(q34;q11) qui aboutit à la formation d'un gène de fusion BCR-ABL codant pour une protéine à activité tyrosine kinase anormale. Le caryotype médullaire est la méthode la plus communément utilisée pour mettre en évidence la translocation t(9;22) présente au diagnostic dans 95% des cas. Le réarrangement BCR-ABL peut être également détecté par l'Hybridation in-situ à fluorescence qui, comparée à la cytogénétique classique, est une technique de cytogénétique moléculaire rapide et très sensible, qui peut être réalisée sur des métaphases ou sur noyaux interphasiques et ceci à partir d'un prélèvement de moelle ou de sang périphérique.

Nous rapportons dans ce travail une série de dix patients marocains ; dont trois au diagnostic avec suspicion de LMC et sept patients à des différents stades évolutifs de la maladie ; chez qui nous avons réalisé la technique d'Hybridation in situ à fluorescence en utilisant les sondes LSI double fusion double couleur.

A travers cette étude, nous allons montrer l'intérêt au Maroc de l'hybridation in situ à fluorescence aussi bien dans le diagnostic de la leucémie myéloïde chronique, surtout les cas avec une délétion au niveau du dérivé du chromosome 9 qui sont associés à un mauvais pronostic, que dans le suivi de la maladie résiduelle des patients sous traitement. Cette technique peut être également réalisée en cas d'échec de culture avec un index mitotique faible ou des métaphases de qualité médiocre pour éviter au malade une seconde ponction de moelle qui est très onéreuse.

**Mots-clefs :** Leucémie myéloïde chronique, Hybridation in situ à fluorescence, BCR-ABL

## Chromosomes, gènes et cancer

A018/#523

### Mutation V617F du gène Jak2 et syndromes myéloprolifératifs phi négatifs: expérience du Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire de Casablanca.

Ghizlane Jabrane, Hind Dehbi, Sanaa Nasserredine, Nadia Serbati, Sellama Nadifi  
Laboratoire de génétique et pathologie moléculaire, CHU Ibn Rochd, Casablanca

**Auteur correspondant :** Jabrane Ghizlane (ghizlane.jabrane@gmail.com)

Les syndromes myéloprolifératifs phi négatifs sont des hémopathies malignes caractérisées par la prolifération clonale des cellules myéloïdes. Ils regroupent la polyglobulie de Vaquez, la thrombocytémie essentielle et la myélofibrose primitive. La parenté entre ces trois pathologies est liée à la découverte de la mutation V617F du gène JAK2 codant une tyrosine kinase. La détection de la mutation V617F permet un diagnostic moléculaire et un suivi thérapeutique simple tout en favorisant le développement d'une thérapie moléculaire ciblée.

Nous rapportons dans ce travail, une étude concernant 245 patients marocains atteints d'un SMP phi négatifs réalisée au Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire de Casablanca. Le but de notre étude était d'abord de déterminer la prévalence de cette mutation dans les trois types de SMP classiques phi négatifs puis d'établir une corrélation phénotype-génotype.

175 des patients avaient une Polyglobulie de Vaquez, 67 avaient une thrombocytémie essentielle, et 3 avaient la myélofibrose primitive. L'âge moyen de nos patients au moment du diagnostic était de 50 ans avec des extrêmes allant de 4 à 91 ans.

La mutation V617F a été retrouvée chez 64,9% des patients, avec des fréquences de 92%, 41%, 33%, respectivement des patients atteints de Polyglobulie de Vaquez, thrombocytémie essentielle, et de myélofibrose. Nos résultats concordent avec ceux de la littérature. La corrélation phénotype-génotype, a montré une différence significative à un seuil de 5% pour la fréquence de leucocytose, le taux d'hémoglobine et d'hématocrite. Concernant les 55 patients négatifs une recherche des autres mutations sur l'exon 12 du gène JAK2 et sur le gène MPL est en cours de réalisation.

**Mots-clefs :** mutation V617F, gène jak2, syndromes myéloprolifératifs

## Chromosomes, gènes et cancer

A019/#538

### Cancer colorectal métastatique Kras sauvage : le polymorphisme LCS6 peut-il prédire l'efficacité des anti-EGFR ?

Marie-P Beaumont (1), Sylvain Manfredi (2), Marie De Tayrac (1), Alexandra Lespagnol (1), Jean-François Bretagne (2), Jean Mosser (1)

1. Service de génétique moléculaire et génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
2. Service des Maladies de l'Appareil Digestif, CHU Pontchaillou, Rennes, France

**Auteur correspondant :** Beaumont Marie (mp.beaumont@hotmail.com)

Le traitement par anti-EGFR est réservé au cancer colorectal métastatique Kras sauvage. 60 à 65 % des cancers colorectaux Kras sauvage ne répondent pas à une chimiothérapie comprenant un anti-EGFR. Le polymorphisme LCS6 (rs61764370) du gène KRAS (lieu de fixation du micro ARN let-7 qui possède une action inhibitrice sur les oncogènes) est suggéré comme facteur de risque de certains cancers. Des études discordantes, rétrospectives, de petits effectifs, suggèrent ou infirment, le rôle de ce polymorphisme dans la réponse aux anti-EGFR dans le cancer du côlon métastatique. Nous avons mené une étude rétrospective à partir de 1200 patients Kras sauvage analysés par la plateforme de génétique moléculaire des cancers de Rennes.

#### Patients et Méthodes

De 2008 à 2010, 1 200 patients avec un cancer colorectal métastatique ont été identifiés comme étant Kras sauvage (codons G12 et G13 de l'exon 2). Un questionnaire a été adressé aux oncologues référents pour recueillir le type de chimiothérapie administré, le nombre de lignes de chimiothérapie, le nombre de cures administrées et la réponse aux traitements selon les critères RECIST (réponse objective (RO), stabilisation (ST), progression (P)). Le statut mutationnel BRAF et le polymorphisme LCS6 ont été analysés par la technique de pyroséquençage sur de l'ADN extrait d'échantillons tumoraux fixés et inclus en paraffine.

#### Résultats

517/1200 questionnaires (43,1 %) ont été remplis par les oncologues ; ont été exclus de l'analyse 227 patients qui n'ont pas reçu d'anti-EGFR, et 67 prélèvements non exploitables. Les données étaient complètes pour 223 patients traités par anti-EGFR ; âge moyen de 69 ans

[25-92], 65 % d'hommes. Globalement 67 % de cette population était non répondeur aux anti-EGFR (ST : 21,1 %, P : 45,7 %), 19 % (n = 42) étaient LCS6 muté (hétérozygote pour 18,5% des cas) et 13 % (n = 29) BRAF muté. La RO aux anti-EGFR en fonction du statut BRAF était de 36,6 % pour les BRAF sauvage (n = 194) et de 10,3 % pour les BRAF muté (n = 29) (p

cas : LCS6 muté (n = 42) : RO 23,8 %, ST 28,6 % ; LCS6 sauvage (n = 181) : RO 35,4 %,

ST 19,3 % (NS) ; pour le groupe BRAF sauvage (n = 194) : LCS6 muté (n = 34) : RO 23,5

%, ST 29,4 % ; LCS6 sauvage (n = 160) : RO 39,4 %, ST 18,1% (NS).

Seulement 19 % des patients recevaient l'anti-EGFR en monothérapie. Le type de chimiothérapie associée à l'anti-EGFR n'influait pas le taux de réponse (Irinotecan seul ou schéma FOLFIRI essentiellement).

#### Conclusion

Cette étude de large effectif confirme l'absence de rôle prédictif à la réponse aux anti-EGFR

du polymorphisme de LCS6 dans le cancer du côlon métastatique. Les autres mutations de Ras (Hras et Nras) ainsi que les mutations de PTEN n'ont pas été recherchées dans cette étude ce qui constitue une de ses limites.

**Mots-clefs :** Cancer colorectal, Anti-EGFR, LCS6

## Chromosomes, gènes et cancer

A020/#547

### Rôle des métalloprotéinases MMP2, 7, 14, 24 et des inhibiteurs de protéinases TIMP2, SERPINB2 dans la pathogénèse du choriocarcinome gestationnel.

Henriette Poaty (1), Dominique Carles (2), Alex Valent (3), Bienvenue Massamba Lebwaze (4), Dominique Carles (5), Jean yves Picard (6), Jean Jacques Candelier (7), Alain Bernheim (3)

1. Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo
2. Service d'Anatomie pathologique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
3. INSERM U985, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Service d'Anatomie Pathologique, Clinique Universitaire, Kinshasa, Congo
5. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
6. INSERM U782 Endocrinologie et Génétique de la reproduction et du développement, Hôpital Béclère, Clamart, France
7. INSERM U972, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

**Auteur correspondant :** Poaty Henriette (poaty\_henriette@yahoo.fr)

Suite à une précédente étude ayant visualisée des gains par hybridation génomique comparative sur puces 244,000 K (vérifiés en hybridation in situ fluorescente), nous avons évoqué le rôle possible des métalloprotéinases (MMP2, 7, 9, 14, 24) dans la pathogénèse des choriocarcinomes (CC). MMP2 (16q12.2), MMP14 (14q11.2q13.1), MMP24 (20q11.2) et les deux gènes inhibiteurs de protéinases TIMP2 (17q25.3) et SERPINB2 (18q21.3) ont été observés dans des régions minimales critiques de pertes chromosomiques (Poaty et al, PlosOne, 2012).

Le but de la présente étude était de vérifier l'expression de ces gènes par immunohistochimie à la fois dans le placenta normal, dans 12 môles hydatiformes complètes et partielles puis dans 36 CC post-môlares.

L'analyse a révélé pour MMP2, 7, 9 : une faible immunoréactivité dans le placenta et les môles, en contraste avec une forte expression dans tous les CC. L'immunoréactivité de MMP14 et MMP24 est normale dans le placenta et les môles, discrète ou négative dans les CC. SERPINB2 faiblement exprimé dans les môles partiels, est négatif dans tous les CC. Aucune immunoréactivité n'a été observée pour TIMP2, dans les môles et les CC.

En conclusion : l'expression des protéines MMP2, 7, 9, 14, 24, SERPINB2 et TIMP2 est modifiée lors de la progression en CC en comparaison au placenta normal. Les désordres du gène d'empreinte maternel TIMP2 pourraient être un des événements initiateurs de l'invasion et de la progression tumorale.

**Mots-clefs :** métalloprotéinases, inhibiteurs des protéinases, choriocarcinome gestationnel

## Chromosomes, gènes et cancer

A021/#549

### Caractérisation par FISH des anomalies chromosomiques dans les leucémies au Maroc

Hind Dehbi (1), Sanaa Nassereddine (1), Oum keltoum Aitboujmiaa (1), Yaya kassogue (1), Asmaa Quessar (2), Sellama Nadifi (1)

1. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc.
2. Service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc.

**Auteur correspondant :** Dehbi Hind (dehbi@labgenmed.com)

La cytogénétique conventionnelle, par le caryotype, est devenue un examen nécessaire dans de nombreuses hémopathies malignes, elle a un intérêt diagnostique par la mise en évidence d'anomalies spécifiques et pronostic majeur permettant une action thérapeutique adaptée. Et bien qu'il s'agisse d'un examen indispensable, le caryotype est parfois mis en défaut pour plusieurs types de raisons. Les nouvelles technologies, comme l'hybridation in situ fluorescente (FISH), sont alors très utiles pour compléter le caryotype conventionnel, permettant de mieux cerner certaines anomalies ou de mettre en évidence de nouvelles anomalies cytogénétiques.

Nous rapportons dans ce travail une étude pro et rétrospective allant de Janvier 2011 à septembre 2013, ou 284 cas de leucémies myéloïdes ont été adressés au Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire du CHU Ibn Rochd de Casablanca. Elle avait pour but de rechercher les différentes anomalies chromosomiques caractéristiques de chaque type de leucémies, dont l'indication respective dépendait du contexte clinique (diagnostique, suivi), biologique (type histologique ou cytologique, immunophénotype) et du résultat du caryotype.

La leucémie myéloïde aigue (LAM) a représenté 61.8% de l'ensemble des hémopathies malignes adressées au laboratoire, avec une prédominance de la LAM type 2, contre 22.1% pour la leucémie myéloïde chronique (LMC), et 16,1% pour autres types de leucémies notamment lymphoïde. La moyenne d'âge de ces patients était de 44.7 ans avec des extrêmes allant de 18 mois à 78 ans. Les deux sexes sont concernés avec une légère prédominance masculine.

La translocation t(15;17) a été trouvée dans environ 95% des leucémies aiguës promyélocytaire (LAM 3), la translocation t(8; 21) et l'inversion du chromosome 16 ont été détectées respectivement dans 12% et 8% des cas de LAM. Les remaniements du gène MLL en 11q23 ont été recherchés dans tous les cas de LAM et a été retrouvés dans 23% des cas. La t(9 ;22) a été retrouvée dans 98% des cas de LMC.

La mise en place pour la première fois au Maroc, des techniques de FISH appliquée à l'hématologie a permis de répondre aux attentes des hématologues pour mieux caractériser les leucémies dans notre pays et de proposer le traitement le mieux adapté au patient.

**Mots-clefs :** FISH, translocation, leucémie

## Chromosomes, gènes et cancer

A022/#561

### Détection de mutations somatiques d'intérêt théranostique dans les tumeurs par séquençage de nouvelle génération (NGS) : comparaison de deux technologies

Aude Lamy (1), Isabelle Tournier (2), Cédric Le Marechal (3), Françoise Charbonnier (2), Sophie Coutant (2), Brigitte Fercot (3), Martin Figeac (4), Jean-Christophe Sabourin (5), Thierry Frébourg (2)

1. Laboratoire de Génétique Somatique des Tumeurs, Centre Hospitalier Régional Universitaire, Rouen, France
2. Inserm U1079, Faculté de Médecine et Pharmacie, Rouen, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire et d'histocompatibilité, Centre Hospitalier Régional Universitaire, Brest, France
4. Plate-forme de génomique fonctionnelle et structurale, Université de Lille 2, Lille, France
5. Laboratoire de génétique somatique des tumeurs - service de pathologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Lamy Aude (aude.lamy@wanadoo.fr)

Le NGS représente une avancée considérable pour le traitement personnalisé des cancers puisqu'il permet de cartographier en un seul temps, pour chaque patient, l'ensemble des mutations prédictives de réponse aux thérapies ciblées et d'analyser simultanément un grand nombre de patients. Ce travail évalue deux stratégies de séquençage haut débit, SHD, (Illumina® et Life technologies®/Ion torrent®) pour caractériser à partir d'un même prélèvement tumoral l'ensemble des mutations somatiques d'intérêt théranostique. Cette étude a porté sur 12 tumeurs (3 cancers colorectaux, 6 cancers du poumon, 1 mélanome, 2 tumeurs gastro-intestinales) présentant 14 altérations moléculaires représentatives : (i) mutations ponctuelles (codons 12-13-61 de KRAS, 790-858 de l'EGFR, 600 de BRAF et 545 de PIK3CA), (ii) délétions au niveau des exons 19 de l'EGFR et 18 de PDGFRA et (iii) duplication au niveau des exons 9 de KIT et 20 de ERBB2. Deux stratégies de préparation des amplicons ont été comparées : (i) pour chaque patient l'ADNg extrait du prélèvement tumoral fixé au formol et inclus en paraffine (FFIP) a été amplifié en simplexe pour chacune des régions cibles puis analysé en parallèle sur GAlIx (Illumina) et Ion torrent, (ii) pour 10 patients, les 17 régions cibles ont été amplifiées par deux réactions multiplexes à partir d'un design AmpliSeq Custom (Life technologies) puis séquencées sur Ion torrent. Les couvertures maximales moyennes obtenues par les différentes approches étaient de 792, 14122 et 2596. Par approche Illumina, nous avons analysé les données brutes d'alignement sur le génome humain : 13 des altérations recherchées étaient identifiées et la mutation PIK3CA/E545K n'était détectée qu'à l'état de bruit de fond pour 2 des 58 lectures. Par approche Ion torrent, les données d'annotations ont été analysées : l'ensemble des mutations recherchées était identifié avec l'approche simplexe et les délétion et duplication au niveau des exons 9 de KIT et 18 de PDGFRA n'étaient pas détectées avec l'approche AmpliSeq Custom (une mauvaise couverture était constatée pour ces régions). De plus, le profil mutationnel a été affiné pour le patient 1 : une mutation PIK3CA/E542K non identifiée dans notre routine diagnostique a été détectée avec les 3 approches (pour 16, 26 et 16% des 112, 12072 et 1990 lectures). Enfin les données de SHD nous ont permis d'aborder l'hétérogénéité tumorale. Par exemple, pour le patient 10, les mutations L858R et T790M de l'EGFR étaient détectées à des fréquences différentes (74% des 875 lectures et 31% des 935 lectures, Illumina) ce qui est compatible avec l'existence de deux clones cellulaires distincts. Ce travail montre que l'ensemble des biomarqueurs théranostiques peut être caractérisé à partir de faible quantité de tissu FFPI par SHD. Toutefois, l'implémentation diagnostique du NGS en génétique somatique des tumeurs nécessite une phase de validation pour répondre aux exigences de qualité des laboratoires de diagnostic moléculaire.

**Mots-clefs :** Séquençage de nouvelle génération, génétique somatique, théranostique

## Chromosomes, gènes et cancer

A023/#567

### Mise en place et validation du criblage en routine des mutations somatiques dans les tumeurs solides par séquençage IonTorrent PGM et enrichissement par PCR multiplex

Andie Godo (1), Quentin Leroy (2), Mathieu Sené (1), Anthony Laugé (1), Virginie Bernard (3), Frédéric Maraone (1), Audrey Margogne (1), Chloé Derouet (1), Séverine Lair (4), Bruno Zeitouni (4), Anthony Blin (5), Cédric Lefol (6), Nicolas Servant (1), Ivan Bieche (1), Céline Callens (1), Thomas Rio Frio (2), Etienne Rouleau (6)

1. Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Next generation sequencing platform, centre de recherche, Institut Curie, Paris, France
3. Next Generation sequencing platform, centre de recherche, Institut Curie, Paris, France
4. INSERM U900, Mines Paris Tech, centre de recherche, Institut Curie, Paris, France
5. Next Generation Sequencing Platform, centre de recherche, Institut Curie, Paris, France
6. Génétique, Institut Curie, PARIS, France

**Auteur correspondant :** ROULEAU Etienne (etienne.rouleau@curie.fr)

En génétique somatique, la mise en place d'un panel pour la détection en parallèle de plusieurs mutations somatiques devient de plus en plus obligatoire avec l'augmentation de marqueurs prédictifs de traitements. Plusieurs solutions commerciales ont été récemment publiées. L'évaluation de leurs performances est nécessaire pour déterminer leurs capacités et les limites dans le cadre du diagnostic moléculaire de routine. Nous décrivons aussi le processus mis en place pour un rendu de résultats compatible avec la décision thérapeutique dans le cadre des marqueurs bioémergents.

#### MATERIEL ET METHODES

Pour cette validation, 75 échantillons d'ADN tumoral (FFPE et HPM) avec des mutations connues ont été utilisés pour évaluer 2 panels à base de PCR multiplex : AmpliSeq cancer hotspot panel V1 et V2. Ces deux panels ont généré 190 et 207 amplicons par échantillon respectivement. Ces produits d'amplification ont été séquencés avec la technologie IonTorrent PGM (Life Technologies). Plusieurs contrôles internes commerciaux (Horizon Technology) ont été utilisés pour mieux décrire la limite de détection de la méthode. Un processus bioinformatique a été mis en place pour l'analyse des données et la mise en forme des résultats sur FileMakerPro.

#### RESULTATS

Les deux panels ont montré un enrichissement efficace des régions ciblées. Toutes les mutations connues ont été trouvées par les deux panels et 185 variants non polymorphes ont été détectés. Plusieurs informations complémentaires ont été apportées comme les mutations sur les gènes HRAS, KIT, PIK3CA et TP53. Des variants hors des hotspots ont aussi été validés en séquençage Sanger. En plus de l'information qualitative, il a été ajouté la quantification allélique des variants ciblés. La limite de détection a été évaluée à 0,5 % pour les principaux hotspots étudiés en routine.

#### CONCLUSIONS

Les résultats soulignent que la méthode d'enrichissement PCR multiplex couplée avec la technologie de séquençage IonTorrent PGM est un moyen efficace pour le criblage simultané de plusieurs hotspots. Le processus mis en place peut répondre aux exigences diagnostiques compatibles avec la décision thérapeutique.

**Mots-clés :** Ion Torrent, PCR multiplex, Validation de méthode

## Chromosomes, gènes et cancer

A024/#576

### Visualisation directe du macrostellite RNU2 situé à proximité du gène BRCA1

Chloé Tessereau (1), Monique Buisson (2), Nastasia Monnet (2), Marine Imbert (2), Laure Barjoux (2), Caroline Schluth-Bolard (3), Damien Sanlaville (3), Emmanuel Conseiller (4), Maurizio Ceppi (4), Olga Sinilnikova (5), Sylvie Mazoyer (2)

1. Centre de Recherche en Cancérologie, Centre Léon Bérard, Lyon, France
2. Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Genomic Vision, Bagneux, Paris, France
5. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon/Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Tessereau Chloé (chloe.tessereau@lyon.unicancer.fr)

#### Introduction

Les CNVs représentent jusqu'à 10% du génome et suscitent un intérêt croissant dans le domaine de la génétique du fait de leur implication dans des maladies qu'on a appelées « maladies génomiques ». Parmi eux, les macrosatellites sont encore particulièrement difficiles à découvrir et génotyper, et sont de fait souvent exclus de la plupart des études pan-génomiques. Le locus RNU2 en est un exemple : largement étudié au cours des années 1980 et 1990 et localisé à proximité d'un des deux gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein, BRCA1, par FISH, il ne figure actuellement pas au sein des dernières versions du génome de référence (Hg18 et Hg19). Sur le chromosome 17, on ne retrouve qu'une seule occurrence d'un pseudogène RNU2 à environ 180 kilobases de BRCA1.

#### Résultats

Nous avons utilisé les données de séquençage disponibles dans les bases de données publiques afin d'assembler manuellement la région. L'étude approfondie par bio-informatique et par PCR des séquences de contigs non-assemblés provenant du projet de séquençage du génome humain (HGP) mais également des contigs du projet de Celera Genomics nous a permis de proposer un assemblage complet de la région, et ainsi de localiser le locus RNU2 entre les nucléotides 41.399.577 et 41.401.198 du chromosome 17. Par FISH conventionnelle, nous nous sommes assurés de sa localisation unique en 17q21. Nous avons parallèlement validé cet assemblage par FISH sur fibres d'ADN étirées (ou peignage moléculaire) et avons montré que le locus RNU2 est localisé à 124 kilobases en amont de BRCA1, et à 60 kilobases en aval du pseudogène RNU2-4P.

En analysant 41 individus, nous avons montré que le nombre de copies varie de 6 à 82 répétitions, affinant énormément les précédentes analyses effectuées par électrophorèse en champs pulsés qui n'arrivaient pas à résoudre les allèles portant plus de 30 répétitions. Le taux d'hétérozygotie est de 98%.

#### Conclusion

La localisation précise du macrosatellite RNU2 au sein du génome de référence et la mise au point d'une technique permettant de déterminer précisément le nombre allélique de copies vont permettre d'étudier les potentielles conséquences phénotypiques et pathologiques d'un changement du nombre de copies. Les macrosatellites font partie des séquences les plus polymorphes du génome humain et peuvent impacter l'organisation chromatinienne et, de ce fait, être impliqués dans des maladies humaines. Il était d'autant plus important de caractériser le locus RNU2 récemment négligé qu'il est situé à proximité d'un gène majeur de prédisposition au cancer du sein, BRCA1 et que lors du diagnostic moléculaire, aucune mutation n'est identifiée sur BRCA1 ou BRCA2 chez 80% des familles prédisposées.

Aucun autre gène majeur de prédisposition n'ayant été identifié malgré les efforts intenses de toute la communauté scientifique, il paraît pertinent de rechercher de nouveaux mécanismes entraînant l'inactivation des gènes BRCA.

**Mots-clés :** macrosatellite, peignage moléculaire, prédisposition génétique au cancer du sein



## Chromosomes, gènes et cancer

A025/#590

### Première étude Tunisienne de la maladie résiduelle au cours des LAL B par RQ-PCR

Sawsen Besbes (1), Walid Hamadou (1), Sameh Hafsi (1), Marie-Laure Boulland (2), Yosra Ben Youssef (3), Béchir Achour (3), Kmira Zahra (3), Thierry Fest (2), Zohra Soua (1)

1. Laboratoire de Biochimie UR 03/08-19, Faculté de Médecine, Sousse, Tunisie
2. Service d'Hématologie cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. Service d'Hématologie clinique, CHU Hached, Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant :** BESBES Sawsen (besbessawsen@yahoo.fr)

Les leucémies aiguës lymphoblastiques de la lignée B (LAL B) sont des hémopathies malignes caractérisées par l'envahissement de la moelle par une population lymphoïde immature et monoclonale. Les réarrangements des loci IGH des chaînes lourdes et IGK des chaînes légères des immunoglobulines peuvent être utilisés comme un marqueur de choix spécifique du clone malin car ils sont les plus stables au cours du temps, aléatoires et uniques dans le clone leucémique. L'étude des maladies résiduelles (MRD) au cours des LAL permet d'évaluer la réponse thérapeutique et un meilleur suivi des patients.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'apport des réarrangements clonaux VH-JH et IGK-Kde dans le diagnostic des LAL B et dans la détection et le suivi de la masse tumorale résiduelle à la fin du traitement d'induction (J35).

Cette étude a porté sur 19 cas de LAL B diagnostiqués et suivis au service d'hématologie du CHU Hached de Sousse en Tunisie.

Au diagnostic, la PCR multiplexe utilisant les amorces (Familles VH-FR2 ou Familles VK et Intron RSS) et les conditions du consortium Biomed 2, a permis de mettre en évidence 5 réarrangements IGH, 2 réarrangements IGK et 4 réarrangements IGH+IGK. Cette étude a objectivé 11 LAL B dont 7 cas ont pu être suivis en fin d'induction par RQ-PCR grâce à la détermination des ASO patient-dépendants. Une absence de masse tumorale résiduelle avec une sensibilité atteignant 10<sup>-5</sup> a été trouvée dans quatre cas. Deux LAL présentaient des blastes résiduels avec un taux > 10<sup>-4</sup> et dans un seul cas les blastes résiduels se situaient dans une zone hors quantification.

Les deux marqueurs IGH-FR2 et IGK-Kde se sont révélés informatifs dans l'estimation de la MRD des LAL B analysées.

Grâce à ce travail, nous introduisons pour la 1ère fois en Tunisie l'évaluation de la MRD des leucémies aiguës de l'enfant et de l'adulte ce qui permettra un suivi thérapeutique rigoureux des patients et contribuera à améliorer leur pronostic.

**Mots-clefs :** maladie résiduelle, LAL B, Réarrangements IGH et IGK

## Chromosomes, gènes et cancer

A026/#620

### Activation de la voie de signalisation Wnt/béta-caténine dans la tumorigenèse associée à la neurofibromatose de type 1

Armelle Luscan (1), Ghjuvan'Ghjacumu Shackelford (2), Julien Masliah-Planchon (3), Ingrid Laurendeau (3), Nicolas Ortonne (4), Jennifer Varin (3), Karen Leroy (4), Mikael Hivelin (5), Laurence Valeyrie-Allanore (6), Laurent Lantieri (5), Dominique Vidaud (1), Pierre Wolkenstein (7), Béatrice Parfait (1), Michel Vidaud (1), Charbel Massaad (2), Ivan Bièche (3), Eric Pasmant (1)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
2. UMR8194 CNRS, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. UMR\_S745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. Département de Pathologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
5. Département de chirurgie plastique et reconstructive, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
6. Département de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
7. Département de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

**Auteur correspondant :** Pasmant Eric (eric.pasmant@gmail.com)

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est caractérisée par l'apparition de neurofibromes cutanés ou plexiformes, tumeurs bénignes composées majoritairement de cellules de Schwann. Les neurofibromes plexiformes peuvent se transformer en MPNST (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumours), tumeurs malignes de mauvais pronostic, résistantes aux thérapies conventionnelles. Outre le second événement d'inactivation du gène NF1, des événements génétiques additionnels sont nécessaires au processus de tumorigenèse dans la NF1. La voie Wnt/béta-caténine a été impliquée dans le développement de différents types de cancers via notamment la prolifération des cellules souches cancéreuses. L'expression de 89 gènes associés à la voie Wnt/béta-caténine, de deux gènes majeurs marqueurs de cellules souches et de cinq gènes marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse a été analysée par RT-PCR quantitative en temps réel au sein d'une série de 57 tumeurs associées à la NF1 (neurofibromes cutanés, plexiformes et MPNST). L'expression des gènes significativement dérégulés a ensuite été étudiée dans sept lignées cellulaires de MPNST, dans des cellules de Schwann humaines normales, ainsi que dans les autres types cellulaires retrouvés au sein des neurofibromes (fibroblastes, cellules épithéliales et mastocytes). L'expression de neuf gènes de la voie Wnt a été trouvée significativement dérégulée dans les neurofibromes plexiformes. Trente gènes de la voie Wnt avaient une expression significativement modifiée dans les biopsies et lignées cellulaires de MPNST. L'activation de la voie Wnt/béta-caténine a été confirmée par IHC dans les MPNST associés à la NF1 et par des tests fonctionnels (plasmide rapporteur Top-Flash) au sein de cellules de Schwann. Enfin, l'activation de la voie de signalisation Wnt a été associée à une augmentation de l'expression des gènes marqueurs de la prolifération de cellules souches cancéreuses ainsi que de la transition Schwanno-mésenchymateuse. Nos résultats suggèrent que les inhibiteurs de la voie Wnt, développés en cancérologie, pourraient représenter une stratégie thérapeutique dans la prise en charge des tumeurs associées à la NF1.

**Mots-clefs :** Neurofibromatose de type 1, NF1, MPNST, malignant peripheral nerve sheath tumours, Voie Wnt/béta-caténine

## Chromosomes, gènes et cancer

A027/#653

### Caractérisation épigénomique de cellules tumorales mammaires "basal-like"

Maud Privat (1,2), Justine Rudewicz (1,2), Guillaume Barnabé (1,2), Flora Ponelle (1,2), Christelle Tamisier (1,2), Yannick Bidet (1,2), Yves-Jean Bignon (1,2)

1. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France  
2. EA4677 ERTICA, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** Privat Maud (maud.privat@cjp.fr)

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme, en France et dans le monde, et touche près d'une femme sur 10. Les tumeurs du sous-type « basal-like » sont caractérisées par une absence d'expression des récepteurs hormonaux, une absence d'amplification du gène HER2 et une forte expression de différents gènes caractéristiques des cellules souches. Ces tumeurs sont en général agressives et de mauvais pronostic mais aucun traitement ciblé n'est disponible à ce jour pour ce groupe de tumeurs.

Notre étude vise à réaliser une caractérisation épigénomique de la sous-classe « basal-like » de tumeurs mammaires afin de mettre en évidence les modifications de la méthylation de l'ADN spécifiques de cette carcinogénèse. Pour cela, l'ADN tumoral méthylé a été immunoprécipité puis séquencé en masse sur un séquenceur de type GS-FLX. En complément l'expression des gènes a été mesurée par séquençage des ARNm tumoraux. Cette stratégie permet à la fois de mettre en évidence les régions hyperméthylées en fonction des différents types tumoraux mais également d'observer les conséquences de cette méthylation de l'ADN sur la régulation de l'expression des gènes. Cette méthodologie a été appliquée à dix lignées de cellules tumorales mammaires appartenant à différents sous-types moléculaires.

Tout d'abord, une analyse globale non supervisée des données de méthylation semble montrer que le profil de méthylation de l'ensemble des gènes ne dépend pas du sous-type tumoral. Nous avons voulu tester si ce résultat pouvait être confirmé sur une cohorte importante de tumeurs mammaires. Pour cela les données de 341 tumeurs mammaires issues du projet international « The Cancer Genome Atlas » (TCGA) ont été analysées. Une classification ascendante hiérarchique, réalisée sur l'ensemble des régions méthylées, montre un regroupement de la majorité des tumeurs mammaires triple-négatives. Le sous-type tumoral triple-négatif semble donc bien présenter un profil de méthylation particulier, contrairement à ce que semblent montrer les données sur les lignées cellulaires. Ces différences pourraient être liées à un nombre trop limité de lignées cellulaires (surtout pour le sous-type luminal) ou au fait que la culture cellulaire pourrait modifier la méthylation de l'ADN.

Par la suite, nous avons utilisé un test de Wilcoxon pour identifier les gènes pour lesquels la méthylation est significativement différente entre les sous-types. En plaçant le seuil de significativité p

**Mots-clefs :** Cancer mammaire basal-like, Méthylation de l'ADN, Transcriptome

## Chromosomes, gènes et cancer

A028/#662

### Caractérisation d'une nouvelle lignée cellulaire de lymphome de Sézary : lignée BKP1

John Boudjarane (1), Arnaud Essaydi (2), Laure Farnault (3), Cornel Popovici (1), Marina Lafage-Pochitaloff (1), Nathalie Beauflis (2), Thérèse Le Treut (4), Hélène Zattara (1), Jean Gabert (2), Brigitte Kahn-Perlès (5), Régis Costello (3)

1. Département de Génétique Médicale, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

2. Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

3. Service d'Hématologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

4. Laboratoire d'Hématologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

5. Technologies Avancées pour la Génomique et la Clinique (TAGC), Unité INSERM U1090, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Boudjarane John (john.boudjarane@ap-hm.fr)

Les lymphomes T cutanés constituent un groupe hétérogène de lymphomes touchant principalement la peau. Les plus communs sont le Mycosis Fungoïdes (MF) et le Syndrome de Sézary (SS) qui se caractérisent par une infiltration cutanée, ganglionnaire ou sanguine (pour le SS) par des lymphocytes T CD4+ qui sont phénotypiquement proches des lymphocytes auxiliaires matures.

Nous rapportons une nouvelle lignée SS à croissance rapide à long terme appelée BKP1 qui a été caractérisée par cytométrie en flux, cytogénétique conventionnelle complétée par de la FISH et de la multi-FISH, et par CGH-array.

L'immunophénotype par cytométrie en flux de la lignée BKP1 est CD2+, CD5+, CD3+, CD4+, CD8-, et CD7-. La caractérisation du TCR $\gamma$  par PCR a identifié un réarrangement clonal. L'analyse cytogénétique conventionnelle par R-banding et l'analyse par multi-FISH ont montré des réarrangements chromosomiques complexes avec des anomalies de nombre et de structure. L'analyse par CGH-array a mis en évidence la perte de gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire (CDKN2A, CDKN2B), dans la réponse immunitaire (HLA, complexe du complément) et dans les mécanismes de réparation des lésions de l'ADN (FANCC, FANCM, XPA).

La lignée cellulaire BKP1 est une autre lignée cellulaire de lymphome complètement caractérisée qui peut être un outil précieux pour la recherche fondamentale et appliquée, comme l'identification des gènes et/ou des voies dérégulés et aussi pour le screening de nouveaux médicaments pour le traitement des lymphomes.

**Mots-clefs :** Lymphome T cutané, Caryotype, Lignée cellulaire

## Chromosomes, gènes et cancer

A029/#667

### Apport de la CGH-array dans le diagnostic des leucémies aiguës de l'enfant

John Boudjarane (1), Cornel Popovici (1), Gérard Michel (2), Nicolas Lévy (1), Hélène Zattara (1)

1. Département de Génétique Médicale, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
2. Service d'Onco-Hématologie pédiatrique, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Boudjarane John (john.boudjarane@ap-hm.fr)

Nous avons exploré le profil génomique de 12 cas de LA pédiatriques (7 LAL-B, 4 LAL-T et 1 LAM) diagnostiqués dans le service d'Onco-Hématologie Pédiatrique de l'Hôpital de la Timone entre septembre 2012 et juin 2013. Les résultats obtenus par CGH-array ont été comparés avec ceux du caryotype conventionnel. Enfin les anomalies détectées seulement en CGH-array ont été confirmées par des techniques de FISH et/ou de biologie moléculaire.

La CGH-array a permis de confirmer toutes les anomalies déséquilibrées observées au caryotype. Elle a également permis de mieux caractériser les anomalies déséquilibrées au sein de caryotypes de mauvaise qualité et/ou complexes et ainsi de caractériser des régions potentiellement impliquées dans la leucémogénèse. De plus, grâce à une meilleure résolution que la cytogénétique conventionnelle, la CGH-array a mis en évidence des anomalies déséquilibrées cryptiques non détectées au caryotype. Ces anomalies concernent, pour 2 patients, des régions contenant des gènes dont l'altération a un impact sur la prise en charge thérapeutique de la leucémie. En effet, le 1<sup>er</sup> patient présente une délétion du gène IKZF1, marqueur pronostique défavorable, faisant poser l'indication d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques en 1<sup>ère</sup> rémission complète. Pour le 2<sup>ème</sup> patient, une délétion du gène NR3C1 (codant pour des récepteurs aux glucocorticoïdes) a été identifiée. Cette anomalie pourrait être responsable d'une résistance à ces molécules. Or, ces molécules ont une place importante dans la prise en charge thérapeutique des LAL, notamment au cours de la pré-phase. La présence de cette délétion pourrait dans l'avenir modifier la prise en charge thérapeutique des patients présentant une délétion du gène NR3C1.

Cette technique apparaît comme un nouvel outil complémentaire pertinent de la cytogénétique conventionnelle et moléculaire pour la prise en charge des LA. En effet, dans notre série, on peut considérer que 2 patients sur 12 (soit 16%) auraient pu avoir un bénéfice évident concernant la prise en charge thérapeutique (délétions d'IKZF1 et de NR3C1). Ce pourcentage est néanmoins suffisant pour que cette analyse ait sa place dans la prise en charge au diagnostic des LA de l'enfant.

Cependant, bien que la CGH-array permette de déceler les anomalies déséquilibrées, elle présente certaines limites. En effet, elle ne permet pas de mettre en évidence les anomalies équilibrées. Or, dans les hémopathies aiguës, il existe un grand nombre de translocations ou d'inversions équilibrées, d'où l'emploi de techniques de PCR pour les mettre en évidence.

Le but de cette étude est de démontrer la faisabilité de la CGH-array en complément de la cytogénétique conventionnelle dans l'environnement hospitalier au moment du diagnostic et la mise en évidence des altérations non décelées au caryotype.

**Mots-clefs :** Leucémie aiguë, CGH-array, Diagnostic de routine

## Chromosomes, gènes et cancer

A030/#677

### Identification de nouvelles translocations récurrentes dans les sarcomes : de la recherche à la routine diagnostique.

Camille Grison (1), Delphine Guillemot (2), Stéphanie Reynaud (1), Franck Tirode (3), Gaëlle Pierron (1), Olivier Delattre (1)

1. Génétique Somatique, Institut Curie, Paris, France
2. Génétique Somatique, Institut Curie, Paris, France
3. U830, Institut Curie, Paris, France

**Auteur correspondant :** Pierron Gaëlle (gaelle.pierron@curie.fr)

Les sarcomes sont des entités tumorales rares, dont le diagnostic reste difficile (> 50 sous-types reconnus). Cependant 20% d'entre eux peuvent être caractérisés grâce à des transcrits de fusion spécifiques résultant de réarrangements chromosomiques qui aboutissent à la production d'un transcrit de fusion chimérique puis d'une protéine oncogène.

Les nombreuses translocations décrites ces 20 dernières années nous ont permis d'établir un catalogue d'exams moléculaires adaptés à la recherche de ces transcrits spécifiques en routine diagnostique par RT-PCR Taqman. Ce panel est passé de moins de 5 types de transcrits distincts détectables en 1992, à 36 types (plus de 100 variants possibles) en 2013. Par exemple, dans le sarcome d'Ewing, EWSR1 peut avoir 5 partenaires différents : FLI1, ERG, ETV1, E1AF ou FEV, qui peuvent recombiner au niveau d'exons distincts, soit 34 variants possibles.

Malgré tout, certains patients à forte suspicion clinique de sarcome à translocation restent sans fusion identifiée. Pour mieux comprendre ces cas, des projets de séquençage haut débit ont été menés en utilisant la technologie de RNAseq. Les nouvelles fusions découvertes, comme celle impliquant les gènes BCOR et CCNB3, ont ensuite été recherchées en PCR classique sur une large cohorte de cas négatifs, permettant d'une part de rétablir le diagnostic moléculaire de certains patients et d'autre part d'inclure ceux restés négatifs dans un projet de recherche translationnelle labellisé par l'INCa visant à investiguer ces cas par RNAseq.

Avec la démocratisation du séquençage haut débit, le nombre de nouvelles translocations décrites, qu'elles soient originales dans de nouvelles pathologies, ou qu'elles impliquent de nouveaux partenaires ne cesse de croître. Dans un souci d'exhaustivité nous avons souhaité optimiser notre approche de diagnostic moléculaire tout en faisant évoluer notre méthode de détection. Cette évaluation technologique a pris en compte : le caractère précieux des échantillons analysés et donc la quantité de matériel nécessaire, la sensibilité de la technique, sa versatilité et sa facilité de mise à jour, mais également les facteurs de temps et de coût, et nous ont conduit à tester le Nanostring nCounter. Cette technologie ouvre également des possibilités facilitées d'analyse sur des types de matériels plus hétérogènes comme les tumeurs fixées en paraffine, le sang, la moelle ou les urines et donc de réaliser ces exams dans le temps diagnostic mais aussi pendant le suivi du patient (la recherche de maladie minimale ou la recherche d'ADNt circulant).

Nous espérons ainsi enrichir et élargir notre offre de marqueurs moléculaires à visée diagnostique tout en continuant à nous inscrire dans une démarche exploratoire à visée scientifique. En effet, les cas, dont le criblage s'avèrera négatif pour les transcrits connus pourront, après évaluation de la pertinence clinique, bénéficier d'une étude par RNAseq en poursuivant la démarche initiée par le projet INCa.

**Mots-clefs :** translocation, Nanostring nCounter Analysis, Séquençage haut débit

## Chromosomes, gènes et cancer

A031/#687

### Caractérisation de l'évolution clonale dans la maladie de Waldenstrom par puces à SNP

Stéphanie POULAIN (1), Christophe ROUMIER (2), Agnes DAUDIGNON (3), Olivier NIBOUREL (2), Elisabeth BERTRAND (4), Charles HERBAUX (5), Patrick DUTHILLEUL (1), Claude PREUDHOMME (2), Xavier LELEU (6)

1. UF de Biologie Moléculaire, CH de VALENCIENNES, VALENCIENNES, France
2. Laboratoire d'Hématologie, CHRU de LILLE, LILLE, France
3. UF de Cytogénétique, CH de VALENCIENNES, VALENCIENNES, France
4. U837, IRCL, LILLE, France
5. Service des Maladies du Sang, CHRU de LILLE, LILLE, France
6. Service des Maladies du Sang, CHRU de Lille, LILLE, France

**Auteur correspondant :** POULAIN Stéphanie (poulain-s@ch-valenciennes.fr)

La maladie de Waldenstrom (MW) est une hémopathie lymphoïde B rare définie par la présence d'un pic monoclonal de type IgM et une infiltration lymphoplasmocytaire médullaire. Les patients symptomatiques (SW) nécessitent un traitement par chimiothérapie au diagnostic ou après une phase asymptomatique et indolente (ASW). Les mécanismes de progression tumorale demeurent mal connus. L'évolution clonale pourrait être modélisée comme processus dynamique caractérisé par une diversité intraclonale et la sélection potentielle d'un sous clone ayant un avantage de survie ou chimiorésistant. Les puces à SNP (Single Nucleotide Polymorphism) permettent à la fois la détection des LOH (perte d'hétérozygotie) et des variations de nombre de copies (CNA). Notre objectif est d'étudier l'évolution clonale par analyse des CNA et copy neutral LOH (CN-LOH) acquis en puces à SNP dans une analyse séquentielle dans la MW.

**Matériel et Méthodes.** Dans cette étude, 19 patients (pts) ont été inclus : 11 pts symptomatiques (SW), 8 asymptomatiques (ASW) (suivi moyen : 52 mois (7-107 mois)). L'ADN a été extrait après sélection des cellules CD19 isolées de moelle osseuse hybridé sur des puces Genome-Wide Human SNP Array 6.0 (Affymetrix chips). Deux à 3 échantillons ont été analysés au cours de l'évolution clinique des pts. Un couple d'échantillons homologues (lymphocytes tumoraux /lymphocytes T) a été utilisé pour sélectionner les anomalies somatiques acquises. Les délétions 6q, 13q14, 11q22, TP53 et les trisomies 4 et 12 ont été validées par FISH, les mutations de MYD88 et TP53 recherchées par séquençage direct et next generation sequencing.

**Résultats.** Au premier point d'analyse, les puces à SNP ont détecté 76 CNA (0-24 per genome) : 22 gains et 54 délétions. Une mutation de MYD88 a été identifiée dans 85% des pts. Une fréquence plus élevée de pts avec plus de 3 CNA est observée dans les SW. Parmi les 8 pts ASW stables cliniquement, aucune modification du profil génomique n'a été observée lors de l'analyse longitudinale. En revanche, une évolution clonale été observée dans 6/11 cas SW. Dans 1/6 cas, 4 CN-LOH dont une en 3p22 où est localisé MYD88, ont été acquises à la rechute après traitement. L'acquisition d'une délétion 7q a été identifiée chez un pt présentant un chromothripsis au diagnostic. Une évolution clonale avec l'apparition d'une délétion 17p sous clonale été observée chez 2 pts présentant une rechute après traitement. Chez 5 autres pts, aucune variation génomique en terme de CNA ou CN-LOH n'a été observée à la rechute après traitement.

**Conclusion.** Notre analyse séquentielle par puces à SNP a identifié une modification de l'architecture clonale dans la MW au cours de la progression de la phase ASW à la phase SW ou de la rechute après traitement. Cette étude de l'évolution clonale pourrait ainsi permettre la caractérisation de nouveaux gènes candidats impliqués dans la progression tumorale dans la MW.

**Mots-clefs :** Maladie de Waldenstrom, Evolution clonale, puces a SNP

## Chromosomes, gènes et cancer

A032/#695

### Prise en charge du diagnostic moléculaire des tumeurs rhabdoïdes au sein de l'Unité de Génétique Somatique de l'Institut Curie.

Laetitia Plancke (1), Delphine Lequin (1), Stelly Ballet (1), Franck Boudeaut (2), Gaëlle Pierron (1), Olivier Delattre (1)

1. Génétique Somatique, Institut Curie, Paris, France
2. U830, Institut Curie, Paris, France

**Auteur correspondant :** Pierron Gaëlle (gaelle.pierron@curie.fr)

Les tumeurs rhabdoïdes sont des lésions pédiatriques ( Le taux de morbidité élevé associé au syndrome de prédisposition rhabdoïde (pénétrance quasi complète) est l'enjeu principal de la caractérisation des anomalies moléculaires. Dans ce cadre, la caractérisation somatique puis constitutionnelle des événements génétiques conduisant à l'inactivation bi-allélique de SMARCB1 prend tout son sens. L'existence d'un risque faible mais réel de transmission familiale oriente alors vers un conseil génétique pour les parents concernés.

A l'initiative de cet examen moléculaire, l'Institut Curie a étudié depuis 1999 plus de 115 cas de tumeurs rhabdoïdes. Une fois le diagnostic posé par IHC (perte d'expression avérée de la protéine SMARCB1), l'examen moléculaire peut être réalisé tout d'abord sur le prélèvement tumoral congelé puis sur un prélèvement constitutionnel (consentement éclairé indispensable). Après contrôle par HES (% de cellules tumorales >50 %) les mutations ponctuelles et les altérations de grande taille du gène SMARCB1 sont respectivement recherchées par séquençage Sanger et MLPA (ou CGH array).

La perte d'expression de SMARCB1 est due dans 47% des cas à l'existence d'une délétion homozygote du gène. Elle peut également être le résultat dans 25% des cas d'une mutation ponctuelle associée à une perte d'hétérozygotie ou encore, dans 18% des cas, de deux mutations inactivatrices distinctes.

Environ 1/3 des cas index présentent une mutation constitutionnelle de SMARCB1 le plus souvent de novo (sans exclure l'hypothèse de mosaïque germinale). Dans le cadre d'une consultation de génétique, des tests peuvent être proposé à la famille, et en cas de projet parental, un diagnostic prénatal proposé.

La prise en charge moléculaire des tumeurs rhabdoïdes permet de confirmer le diagnostic posé dans 80% des cas. Dans les cas où une seule altération de SMARCB1 est mise en évidence malgré la perte d'expression de la protéine (10%), nous recherchons d'éventuelles altérations au niveau du promoteur ou directement au niveau de l'ARNm. Enfin pour les cas où seul le diagnostic de tumeur rhabdoïde est objectivé sans aucune altération moléculaire avérée de SMARCB1 (10%) des approches de type Next Generation Sequencing sont réalisées afin de mieux comprendre l'oncogenèse de cette pathologie et d'en identifier de nouveaux marqueurs.

**Mots-clefs :** Tumeur Rhabdoïde, Génétique Moléculaire, Diagnostic



## Chromosomes, gènes et cancer

A033/#704

### Mutation jak2 dans les hémopathies malignes

imane samri (1), laïla bouguenouch (1), khadija belhassan (1), hanane sayel (1), karim ouldim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** samri imane (imane.samri@yahoo.fr)

La Janus kinase 2 (JAK2) est une protéine de type tyrosine kinase impliquée dans plusieurs voies de signalisation responsables principalement de la survie et de la prolifération cellulaire.

La mutation JAK2 V617F associée aux syndromes myéloprolifératifs a été décrite comme un événement génétique fréquent chez la majorité des patients atteints de polyglobulie de Vaquez (90% des cas), la thrombocytemie essentielle (50%) et la myélofibrose idiopathique (50%). Cette mutation est caractérisée par un changement d'un nucléotide (un T pour un G) sur l'exon 14 du gène JAK2 situé sur le chromosome 9, locus 9p24.1, conduisant à une substitution de la valine en phénylalanine en position d'acide aminé 617 de la protéine JAK2.

La découverte de ce marqueur a rapidement été prise en compte par l'OMS qui a considéré la positivité de la mutation JAK 2 comme un critère majeur du diagnostic.

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée chez 26 patients adressés du service de médecine interne et de gastroentérologie du CHU Hassan II Fès présentant un syndrome myéloprolifératif selon des critères cliniques et hématologiques. Dans cette série, 8 patients sont porteurs de cette mutation.

L'objectif de ce travail est de déterminer la prévalence de la mutation JAK2 dans les hémopathies malignes et d'identifier son impact clinique au cours de sa présence, ainsi que ses éventuelles implications dans l'établissement du diagnostic et les progrès thérapeutiques.

**Mots-clefs :** syndromes myéloprolifératifs, mutation JAK2, diagnostic moléculaire

## Chromosomes, gènes et cancer

A034/#724

### Un protocole efficace et moins coûteux d'utilisation de la trousse UroVysion en combinaison avec le balayage automatique des lames pourrait constituer une alternative valable à la cytologie urinaire dans le diagnostic du cancer de la vessie

Ahmed Emad (1), Éric F Bouchard (1), Josée Lamoureux (1), Michel Carmel (2), Régén Drouin (1)

1. Laboratoire de recherche transdisciplinaire en génétique, médecines et sciences sociales, Service de génétique, Département de Pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

2. Service urologie, Département de Chirurgie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

**Auteur correspondant :** Drouin Régén (Regen.Drouin@USherbrooke.ca)

La cytologie urinaire est utilisée de routine avec la cystoscopie pour le diagnostic du cancer de la vessie et le suivi des récidives. La cytologie urinaire est peu sensible, surtout dans les cas de tumeurs de bas grade. Bien que considérée comme le test de référence, la cystoscopie est un test invasif et très coûteux. D'autre part, il est connu que certaines anomalies chromosomiques sont susceptibles d'être plus spécifiques à la tumeur que la cytologie et pourrait permettre un diagnostic plus précoce. UroVysion est un test d'hybridation in situ observée en fluorescence qui détecte les aneuploidies des chromosomes 3, 7, 17 ainsi que la perte du locus 9p21 dans les cellules urothéliales cancéreuses présentes dans l'urine. Ce test, bien que plus sensible que la cytologie, est laborieux et coûteux, ce qui limite son application en clinique. Le but de cette étude est de déterminer la faisabilité de diluer la sonde et d'utiliser le balayage automatique pour diagnostiquer le cancer de la vessie, sans affecter la qualité des résultats. Dans un premier temps, l'efficacité d'hybridation de la sonde diluée avec un tampon commercial a été évalué sur deux lignées cellulaires, l'une avec un caryotype normal et l'autre avec un génome présentant plusieurs anomalies chromosomiques. Pour chaque condition, trois lecteurs ont compté à l'aveugle 200 cellules. Par la suite, les lames ont été balayées à l'aide d'un système de microscopie automatisé. Des diminutions d'efficacité d'hybridation statistiquement significatives ont été observées pour les dilutions 1/10 et 1/5, particulièrement pour les signaux du locus 9p21. Pour les dilutions 1/2, 1/3 et 1/4, il n'y avait pas de baisse d'efficacité d'hybridation. Les résultats du balayage automatique sont comparables à ceux du balayage manuel, soulignant le potentiel de cette approche. Pour vérifier la validité du balayage automatique, une étude comparative entre le balayage manuel et automatique de la trousse UroVysion avec la sonde diluée 1/3 est en cours sur des échantillons cliniques provenant de patients suivis en cystoscopie et en cytologie pour un cancer de la vessie ou une récidive. Le test UroVysion est un outil clinique utile pour la détection de cellules urothéliales cancéreuses et pourrait fournir une alternative valable à la cytologie urinaire. Il pourrait également aider les patients en suivi de récidive de cancer de la vessie en permettant une surveillance moins fréquente par cystoscopie. En réduisant le temps technique et le coût du test, cette approche permettra d'ouvrir cette application à une clientèle plus large dans le cadre du diagnostic et le suivi de cancer de la vessie.

**Mots-clefs :** Hybridation in situ observée en fluorescence - Trousse UroVysion, Cancer de la vessie, Balayage automatique - balayage manuel des lames

## Chromosomes, gènes et cancer

A035/#731

### Syndrome de Williams Beuren et prédisposition au cancer: Caractérisation génétique de 4 cas de cancers survenus chez des enfants atteints du syndrome de Williams Beuren

David GUENAT (1), Jean SOULIER (2), Patrick EDERY (3), Carmelo RIZZARI (4), Helen FRYSSIRA (5), Christophe BORG (6), Pierre Simon ROHRICH (7)

1. Laboratoire de Biologie cellulaire et moléculaire, CHU Jean Minjoz, Besançon, France
2. Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
3. Service de Génétique Constitutionnelle et Génétique Clinique, Groupement Hospitalier Est, Bron, France
4. Service d'Hémo-Oncologie Pédiatrique, Clinique Pédiatrique Universitaire Milano-Bicocca, Monza, Italie
5. Service de génétique médicale, Hôpital d'enfants Aghia Sophia, Athènes, Grèce
6. Service d'oncologie médicale, CHU Jean Minjoz, Besançon, France
7. Service d'Hématologie, Hôpital Archet I, Nice, France

**Auteur correspondant :** GUENAT David (davidguenat@gmail.com)

Le syndrome de Williams Beuren (SWB, OMIM#194050) est une maladie génétique rare (l'incidence des formes typiques est de 1/20000) associant malformations cardiovasculaires, retard psychomoteur, dysmorphie faciale caractéristique et profil cognitif et comportemental spécifique. Cette maladie est causée par une microdélétion chromosomique de 1,5Mb située dans la région q11.23 d'un des 2 chromosomes 7 englobant 28 gènes et 2 miRNA. Aucune prédisposition au cancer n'est connue dans ce syndrome. Cependant une revue attentive de la littérature montre que 16 cas de cancers ont été rapportés chez ces enfants dont 8 sont des Lymphomes malins Non Hodgkiniens (LNH). Plusieurs gènes (PMS2L, WSTF, RFC2 et les gènes de la famille TFII-I) délétés dans le SWB sont impliqués dans des voies de réparation de l'ADN et sont possiblement des gènes suppresseurs de tumeurs. Nous avons décidé de caractériser par CGH-array la taille de la microdélétion et les aberrations chromosomiques associées chez 4 patients atteints de SWB ayant présentés soit un LNH (n=3) soit un adénocarcinome de l'œsophage (n=1). La présence de mutations dans les 28 gènes et les 2 loci de miRNA a été étudié par séquençage de nouvelle génération. L'expression des transcrits et des miRNA ainsi que l'existence d'une instabilité des microsatellites ont également été analysés. Aucun réarrangement chromosomique ni mutation récurrente n'ont pu être mis en évidence chez ces patients. Aucune instabilité génomique n'a été révélée par les techniques utilisées. Cependant, l'analyse de l'expression des transcrits et miRNA a montré que les gènes CLIP2, WSTF, GTF2IRD2, LAT2 et STX1A ainsi que les miRNA Hsa-mir-590-3p et -5p étaient nettement sous exprimés dans les tissus tumoraux. Des études complémentaires sont nécessaires pour élucider les mécanismes, notamment épigénétiques, à l'origine de l'expression altérée de ces gènes et leur rôles respectifs dans la prédisposition au cancer, LNH en particulier, chez les patients atteints de SWB.

**Mots-clefs :** Syndrome de Williams Beuren, Lymphomes non-hodgkiniens, Instabilité génétique

## Chromosomes, gènes et cancer

A036/#736

### Evaluation de l'exposition professionnelle aux faibles doses de radiation ionisante (RI) dans le milieu hospitalier par le test de micronoyaux (MNs) couplé à l'Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH)

Sana Bouraoui (1), Faten Tabka (2), Soumaya Mougou (1), Afef Drira (2), Hatem Elghezal (1), Dorra Hmida (1), Ons Mamai (1), Najib Mrizek (2), Ali Saad (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de biologie moléculaire et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie.
2. Service de Médecine de travail, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant :** Bouraoui Sana (sana\_bouraoui@yahoo.fr)

#### Introduction

Les risques professionnels sont très nombreux dans nos hôpitaux Tunisiens. Ils cumulent les risques inhérents à toute activité de travail et les risques liés à sa spécificité. Celle-ci tient à la présence d'agents pathogènes et génotoxiques pouvant se révéler potentiellement cancérogènes.

Actuellement, les (RI) sont utilisés comme outil de traitement thérapeutique de nombreuses tumeurs. Cependant quelques cas de cancer radio-induits ont été observés chez le personnel hospitalier.

L'objectif de notre étude est d'évaluer le potentiel génotoxique (probablement cancérogène) de l'exposition professionnelle aux faibles doses de (RI) chez le personnel de soin en utilisant la technique de MNs couplée à la FISH nous permettant ainsi de mieux comprendre l'effet des (RI) (aneugène/ clastogène) au niveau des lymphocytes périphériques.

#### Matériel et Méthodes

Les altérations chromosomiques consécutives à l'exposition professionnelle aux faibles doses de (RI) ont été analysées au niveau des lymphocytes périphériques de 67 personnels de santé des deux hôpitaux de Sousse (Tunisie) (issus des services de : médecine nucléaire, de radiothérapie, de radiologie, de physiologie, de cardiologie et de service d'orthopédie) comparés à 43 témoins appariés pour l'âge, le sexe et le mode de vie. L'évaluation des mutations chromosomiques a été réalisée à l'aide du test de MNs avec blocage de la cytotière suite au traitement avec la cytochalasine B (5µg/ml). Deux milles cellules binuclées ont été analysées. La FISH réalisée via l'utilisation de sondes tous centromères permettant de mettre en évidence la composante génétique des MNs.

#### Résultats et discussion

La fréquence de MNs chez les exposés aux (RI) était significativement plus élevée chez le personnel du soin que chez les témoins (13.63% ±4.9 contre 6.52% ±4.21 ; p

Le résultat de la FISH avait démontré une fréquence de cellules binuclées micronuclées plus élevée chez le personnel hospitalier. Les exposés aux faibles doses de RI présentaient une augmentation (9.04%±4.57) statistiquement significative (p

#### Conclusion

Nos résultats avaient démontré une élévation du risque génotoxique lié à l'exposition professionnelle dans les services utilisant les faibles doses de (RI). Ces observations doivent permettre de sensibiliser chacun quant à l'amélioration et au bon usage des moyens de prévention collectifs et individuels.

Mots clés : génotoxicité, faibles doses de radiations ionisantes, micronoyaux, hybridation in situ en fluorescence, pouvoir clastogène, potentiel cancérogène.

**Mots-clefs :** faibles doses de radiations ionisantes, génotoxicité, pouvoir clastogène

## Chromosomes, gènes et cancer

A037/#761

### Les anomalies chromosomiques dans les syndromes myélodysplasiques : à propos d'une série de 23 patients marocains

Yassamine Doubaj (1), Abdelhafid Natiq (2), Wiam Azour (3), Aziza Sbiti (4), Abdelaziz Sefiani (5)

1. Département de Génétique Médicale, Institut national d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Faculté des sciences, Université Mohammed V Agdal, Rabat, Maroc
3. Faculté des Sciences et Techniques, Université Hassan I, Settat, Maroc
4. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant** : Doubaj Yassamine (y.doubaj@gmail.com)

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) constituent un groupe hétérogène de dysfonctionnements de l'hématopoïèse qui sont dus à une anomalie monoclonale de la cellule souche pluripotente. Il s'agit d'affections pré-leucémiques, avec risque de transformation aigue dans 30 à 40% des cas, et elles peuvent être primaires ou secondaires surtout post-thérapeutiques. Sur le plan biologique, les SMD sont caractérisés par une ou plusieurs cytopénies contrastant avec une moelle riche avec des cellules dysplasiques. Le caryotype médullaire est réalisé de façon systématique au diagnostic. Les anomalies cytogénétiques sont retrouvées dans 50% des SMD de novo et dans 80 à 90% des SMD secondaires. Il s'agit d'anomalies non équilibrées avec perte ou gain de chromosomes (totaux ou partiels).

Nous rapportons dans ce travail une série de 23 patients colligés au département de Génétique Médicale chez qui nous avons réalisés un caryotype médullaire pour suspicion d'un syndrome myélodysplasique. Nous avons retrouvés des anomalies cytogénétiques chez 8 patients (35%) à type d'anomalies des nombres ou de structure.

A travers de travail, nous insistons sur l'intérêt de la cytogénétique aussi bien dans le diagnostic que dans le pronostic et ceci pour une meilleure prise en charge des patients atteints de SMD.

**Mots-clefs** : syndromes myéloplasiques, cytogénétique, anomalies chromosomiques

## Chromosomes, gènes et cancer

A038/#799

### Métalloprotéinases et cancer des seins: des marqueurs pronostiques et cibles thérapeutiques.

Dalel BEN NEJIMA (1), Slim BACHHAMBBA (1), Soumaya LABIDI (1), Ma MANAI (2), Yosr BEN ZARKOUNA (1), Pascal PUJOL (3), H. BOUSSEN (1)

1. Département d'Oncologie médicale, Hôpital Abderrahmen Mami, Ariana, Tunisie
2. Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, Faculté des Sciences, Tunis, Tunisie
3. Unité d'oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant** : BEN NEJIMA Dalel (dalelbennejima@yahoo.com)

En Tunisie, le cancer du sein est le cancer féminin le plus fréquent, il représente la première cause de mortalité féminine dans la tranche d'âge de 35 à 55 ans. L'évolution de ce cancer est déroutante mais l'obtention des facteurs pronostiques dès le diagnostic permet d'envisager un traitement gradué adapté à chaque groupe pronostique de patientes.

Les metalloproteinases matricielles (MMPs) appartiennent à un vaste groupe de 23 protéases jouant un rôle essentiel dans la dégradation de la matrice extracellulaire lors des processus physiologiques et/ou pathologiques. L'implication de ces enzymes dans la carcinogenèse a été solidement démontrée : elles ont été rencontrées à des taux élevés dans de nombreux cancers et seraient corrélés à un plus mauvais pronostic. Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'implication des polymorphismes des gènes MMP1, 2, 3, 7,9 et TIMP2 dans le cancer des seins en Tunisie.

Méthodes : Notre étude a porté sur 200 femmes comparées à 200 témoins sains. L'étude des polymorphismes des promoteurs a été réalisée par les techniques de PCR- ARMS et séquençage direct pour le gène MMP2 et PCR- RFLP pour les gènes MMP3, MMP9, MMP7, et TIMP2. L'association des paramètres clinico-pathologiques et des marqueurs génétiques au risque du cancer du sein a été étudiée en utilisant des analyses univariées.

Résultats : Concernant le polymorphisme -1306 C/T MMP-2, les analyses alléliques et génotypiques montrent que les génotypes (-1306 CT ou TT) sont associés à une forte réduction du risque du cancer du sein [Odds Ratio (OR), 0.21; (95% CI), 0.034–1.004]. Pour le TIMP2, une réduction du risque du cancer du sein modérée (OR, 0.13; 95% CI, 0.027–0.636) est aussi associée aux génotypes (-418 GC ou GG) comparativement au CC. De plus, les polymorphismes de ses deux gènes présentent des effets additifs, un risque élevé du cancer du sein a été observé en présence du génotype CC du MMP2 et des génotypes GC et CC du TIMP2 ( $p=0.006$ ). Nos résultats montrent aussi que les patients ayant le génotype 2G/2G du MMP1 montrent une augmentation significative de augmentation de 3.9 du risque de métastases ganglionnaires (95% CI, 1.7-9.4;  $P < 0.001$ ) comparé au patientes ayant le génotype 1G/1G. De même les patients ayant le génotype C/T du MMP-9 une augmentation significative de augmentation de 3.6 du risque de métastases ganglionnaires (95% CI, 1.0-11.1;  $P < 0.001$ ) comparé au patientes ayant le génotype C/C.

Conclusion : Nos résultats suggèrent pour la première fois en Tunisie que la présence des variations au niveau des promoteurs des gènes MMP2, MMP1, MMP9 et du TIMP2 peuvent influencer la progression des tumeurs du sein et aider à prédire le pronostic.

**Mots-clefs** : Métalloprotéinases, cancer des seins, marqueurs

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A039/#12

### Exposition professionnelle et infertilité masculine chez les hommes consultant pour conseil génétique : Corrélation positive entre anomalies chromosomiques et exposition reprotoxique.

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Mariem Elarem (1), Tarek Rebai (1)  
1. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Abdelmoula Bouayed Nouha  
(nouha\_abdelmoulabouayed@yahoo.fr)

De nombreux facteurs concernant le mode de vie et l'environnement avec notamment les expositions professionnelles à des agents reprotoxiques, sont susceptibles d'agir sur la fertilité masculine en provoquant souvent des altérations spermatiques.

Dans cette étude épidémiologique observationnelle rétrospective, nos objectifs étaient de ressortir à travers l'analyse des données cliniques de la population d'hommes infertiles d'une consultation de conseil génétique, les caractéristiques et le pourcentage des hommes présentant une exposition professionnelle reprotoxique avérée ainsi que la nature de ces expositions puis de comparer leurs paramètres spermatiques et leur statut chromosomique à ceux des hommes infertiles de la même consultation, ne présentant pas de risque d'exposition tangible. Nous avons recherché statistiquement, des associations significatives entre l'altération des paramètres spermatiques, les anomalies chromosomiques et l'exposition à certains reprotoxiques. Parmi 1081 patients sélectionnés à partir de la base des données des patients consultant pour conseil génétique pendant deux ans, nous avons retenu 250 hommes soit 23% répondants à nos critères d'inclusion. Nos résultats ont révélé que 47,6% des patients étaient exposés à des agents reprotoxiques (GE) alors que 52,4% travaillaient dans des domaines professionnels sans risque d'exposition reprotoxique (GNE). La répartition des patients selon le secteur d'activité reflétait approximativement celle de la population active Tunisienne à la même période étudiée, et ce selon les chiffres de l'enquête nationale sur la population et l'emploi de l'Institut National de Statistiques. Nous avons aussi trouvé que certaines activités professionnelles à risque sont fréquentes et que les solvants y compris les éthers de glycol ainsi que les pesticides et la chaleur étaient les agents reprotoxiques les plus représentés. Sur le plan spermiologique, tous nos patients avaient des paramètres spermatiques altérés du fait du mode de recrutement. Cependant, le degré d'altération était variable avec 52% des patients qui présentaient une azoospermie ou une OAT extrême. Le degré d'altération observé chez les patients du GE était légèrement plus accentué avec des profils extrêmes à sévères, plus nombreux soit 68,1% versus 62,6% pour les patients du GNE, mais statistiquement sans signification. Sur le plan cytogénétique, 8% des patients avaient un caryotype anormal, une fréquence habituelle dans la population des hommes infertiles à paramètres spermatiques altérés. Mais, la proportion des anomalies chromosomiques majeures découvertes dans GE était significativement plus importante par rapport au GNE soit 10% versus 3% ( $\chi^2=2.145$ ;  $p^*=0.0320 < 0,005$ ). Nous suggérons que les anomalies chromosomiques constituent un facteur de risque quant à l'action des reprotoxiques et ce en considérant différents hypothèses.

**Mots-clefs :** infertilité masculine, anomalies chromosomiques, agents reprotoxiques

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A040/#13

### Severe phenotypic expression of Wolf-Hirschhorn syndrome caused by unbalanced maternally inherited chromosomal translocation der(4)t(4;8)(p15.3;q22-23)mat

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Tarek Rebai (1)  
1. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Abdelmoula Bouayed Nouha  
(nouha\_abdelmoulabouayed@yahoo.fr)

A 16-month-old girl was referred for our genetic consultation with severe prenatal and postnatal growth impairment, delayed psychomotor development, seizures, heart defect (ASD) and facial dysmorphic features with bilateral cleft palate and lips, abnormal and asymmetric ears and blindness by under diagnosed congenital glaucoma. She was the only child alive of a consanguineous couple who lost two pregnancies at 8 and 12 weeks and two sons at the age of 2 and 7 months with severe primary immunodeficiencies. Standard karyotyping of the child and her parents was carried out. The mother was shown to be a carrier of balanced reciprocal translocation 46,XX,t(4;8)(p15.3;q22-23) whereas the girl carried the derivative chromosome 4 of her mother: der(4)t(4;8)(p15.3;q22-23)mat resulting in the deletion of the critical region for Wolf-Hirschhorn syndrome (WHS) and duplication of the critical region for the 8q duplication syndrome.

Our patient had deletion 4p15.3-pter with clinical features of WHS and duplication 8q22-23 for which congenital glaucoma and immunodeficiency can be related. Although the GLC1D locus mapped to the 8q23 region is specific to adult-onset primary open-angle glaucoma.

To our knowledge, This is probably the first description of WHS phenotype resulting from a familial 4p;8q translocation. Taken together, it is suggested that the abnormalities of chromosome 4p15.3-pter and/or 8q22-23 are associated with developmental glaucoma and other systemic anomalies and immunodeficiencies.

**Mots-clefs :** Translocation, Wolf Hirschhorn syndrome, Karyotype



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A041/#19

### DIAGNOSTIC AND MANAGEMENT CHALLENGES OF GENETIC DISEASES IN RWANDA

Leon Mutesa (1), Annette Uwineza (1), Janvier Hitayezu (1), Seraphine Murorunkwera (1), Lisine Tuyisenge (2), Raissa Teteli (2), K. Emmanuel Rusingiza (2), Joseph Mucumbitsi (3), Mauricette Jamar (4), Anne Cecile Hellin (4), Vincent Bours (4)

1. Medical Genetics, National University of Rwanda, Kigali, Rwanda
2. Department of Pediatrics, Kigali University Teaching hospital, Kigali, Rwanda
3. Department of Pediatrics, King Faysal Hospital, Kigali, Rwanda
4. Center for Human Genetics, University of Liege, Liege, Belgique

**Auteur correspondant :** Mutesa Leon (lmutesa@nur.ac.rw)

**Background:** Genetic diseases refer to genetic disorders caused by defects or abnormalities in chromosomes or genes. Chromosome disorders include numerical anomalies (e.g. monosomies, trisomies, etc) and chromosomal rearrangements mainly characterized by unbalanced translocations, inversions, duplications or deletions. In addition, molecular defects affecting gene expression represent a high proportion of monogenic or polygenic genetic diseases.

**Methods:** In the present study, we conducted a survey aiming at assessing clinical aspects and genetic diagnostic patterns of Rwandan patients presenting with clinical phenotype suggestive of genetic disease. This survey was a compilation of several genetic studies so far conducted within a six-year-period starting from 2006 to 2012. Most of patients were selected based on clinical features suggesting of a specific genetic disease. Cytogenetic studies including karyotype, Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) analysis were performed in the majority of these patients. In addition, molecular tests such as Polymerase Chain Reaction (PCR), gene sequencing or Multiplex Ligand Probe Amplification (MLPA) analysis and CGH-array were done for better diagnostics' characterization of monogenetic or chromosomal disorders.

**Results:** In total, we identified a considerable number of chromosomal abnormalities including trisomy 21, trisomy 13, trisomy 18, Turner syndrome, Cat Eye syndrome, Williams syndrome and others. Furthermore, monogenic disorders such as cystic fibrosis-like disease, sickle cell anemia, spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2), Hunter syndrome, Hutchinson-Gilford Progeria syndrome were also found. In addition, seven patients showed microdeletion and microduplication syndromes. Other polygenic disorders including holoprosencephaly, meningomyelocele, cyclopia syndrome, and encephalocele syndrome were also identified.

**Conclusion:** this survey revealed a large number of genetic diseases in Rwanda. The cytogenetic and molecular tests should be mandatory for diagnosis assessment. Nevertheless, their management is still a challenging situation in our African settings. However, genetic counselling should be provided to all families at high risk of a recurrent autosomal dominant, recessive or X-linked diseases.

**Mots-clefs :** Chromosomal abnormalities, Molecular defects, Rwanda patients

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A042/#35

### Duplication Xp11.23p11.3 de novo chez une patiente : à propos d'un nouveau cas

A Destrée (1), A Aeby (2), B Grisart (3)

1. génétique, Centre de Génétique Humaine, Charleroi (Gosselies), Belgique
2. Neuropédiatrie, CHU Tivoli, La Louvière, Belgique
3. Génétique, Centre de Génétique Humaine, Charleroi (Gosselies), Belgique

**Auteur correspondant :** DESTREE Anne (anne.destree@ipg.be)

Les duplications de la région Xp11.23p11.3 sont rares. Nous rapportons l'histoire clinique et les anomalies cytogénétiques d'une jeune fille de 14 ans présentant une duplication Xp11.23p11.3 de novo. Le phénotype de cette patiente comprend une déficience intellectuelle sévère, une absence de langage, des traits autistiques, de l'épilepsie, de l'obésité, une puberté précoce, une macrocéphalie et une dysmorphie faciale. L'analyse par CGH sur micropuce à ADN a défini une microduplication d'environ 4,15 Mb s'étendant de 45.2Mb à 49.3Mb (hg19). Une analyse par q-PCR de la patiente et de ses parents a confirmé la duplication et montré qu'il s'agissait d'une anomalie de novo. Une étude d'inactivation du chromosome X a montré une inactivation biaisée (100 %). En 2009, Giorda et al ont décrit une duplication récurrente Xp11.22p11.23 chez 6 filles et 2 garçons. Le phénotype est assez similaire à celui observé chez notre patiente : déficience intellectuelle modérée à sévère, retard sévère de langage, épilepsie, obésité et puberté précoce. Cette microduplication est expliquée par un mécanisme de recombinaison homologue non-allélique entre les duplions D-REP et P-REP et a une taille d'environ 4.5Mb. Le point de cassure distal de la duplication identifiée chez notre patiente est localisé dans une région plus télomérique tandis que le point de cassure proximal correspond au duplions M-REP qui est localisé entre les points de cassure récurrents D- et P-REP rapportés dans la publication de Giorda et al. Ceci pourrait suggérer l'existence d'autres séquences répétées susceptibles de favoriser la duplication par recombinaison homologue non-allélique. Le chevauchement entre la duplication de notre patiente et la duplication récurrente est d'environ 1Mb. Nous pouvons définir une région candidate de plus petite taille responsable de ce phénotype. Les caractéristiques de notre patiente seront présentées avec une revue des cas disponibles dans la littérature et dans les bases de données publiques.

**Mots-clefs :** duplication Xp11.23p11.3, CGH-array, Déficience intellectuelle

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A043/#58

### Dysregulation of FOXP1 pathway in a 14q12 microdeletion case.

Olivier PERCHE (1), Georges HADDAD (2), Arnaud MENUET (3), Patrick CALLIER (4), Mélanie MARCOS (5), Sylvain BRIAULT (1), Béatrice LAUDIER (1)

1. Structure Interne de Génétique, CHR Orléans - UMR7355 - INEM - CNRS - Université Orléans, Orléans, France
2. Service de Génétique, Hôpital de Blois, Blois, France
3. Neurogénétique, UMR7355 - INEM - CNRS - Université Orléans, Orléans, France
4. Service de Cytogénétique, Hôpital de Dijon, Dijon, France
5. Structure Interne de Génétique, CHR Orléans, Orléans, France

**Auteur correspondant :** LAUDIER Béatrice (beatrice.laudier@chr-orleans.fr)

"FOXP1 syndrome" includes postnatal microcephaly, severe intellectual disability with absence of language and agenesis of the corpus callosum. When the syndrome is associated with large 14q12q13 deletions, the patients present characteristic facial dysmorphism. Although all reports were based on genomic analysis, recently a FOXP1 regulatory elements deletion associated with a down expression of mRNA suggested an implication of FOXP1 pathway. Herein, we report on a young boy with a phenotype consistent with a FOXP1 syndrome. He had a de novo translocation t(6;14)(q22.1;q12) associated with a heterozygous 14q12.2q13 deletion encompassing FOXP1. Subsequently, we investigated his transcriptomic profile on lymphoblastoid cell lines and/or fibroblasts and showed that FOXP1 was commonly down-regulated. Moreover, several other FOXP1 pathway genes were also disturbed. Our data and review of previous reports highlight dysregulation of FOXP1 pathway as the cause of the "FOXP1 syndrome" developmental disorder.

**Mots-clés :** 14q12 microdeletion, FOXP1, FOXP1 pathway

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A044/#59

### Combined deletion of two Condensin II system genes (NCAPG2 and MCPH1) in a case of severe microcephaly and mental deficiency.

Olivier PERCHE (1), Arnaud MENUET (2), Mélanie MARCOS (3), Luyan LIU (2), Arnaud PARIS (2), Kagistia H. UTAMI (4), Valere CACHEUX (5), Béatrice LAUDIER (1), Sylvain BRIAULT (1)

1. Structure Interne de Génétique, CHR Orléans - UMR7355 - INEM - CNRS - Université Orléans, Orléans, France
2. Neurogénétique, UMR7355 - INEM - CNRS - Université Orléans, Orléans, France
3. Structure Interne de Génétique, CHR Orléans, Orléans, France
4. Department of Human Genetics, Genome Institute of Singapore, Singapour, Singapour
5. Hématologie Biologique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** PERCHE Olivier (operche@cns-orleans.fr)

7qter deletion syndrome includes prenatal and/or postnatal growth retardation, microcephaly, psychomotor delay or mental retardation and a characteristic dysmorphism. If clinical features are well described, the molecular mechanisms underlying the 7qter deletion syndrome remain unknown. Those deletions usually arise de novo. Here, we describe a young boy with an abnormal phenotype consistent with a 7qter deletion syndrome. High resolution genomic analysis (Affymetrix Human Genome Wide SNP 6.0) revealed a 7q36.3 deletion encompassing NCAPG2, ESYT2, WDR60 and VIPR2, inherited from his asymptomatic father and paternal grandfather. In addition, the patient also harbored a MCPH1 deletion inherited from his healthy mother. Combined NCAPG2 and MCPH1 deletions were correlated with low mRNA levels and protein expression in the patient. MCPH1 and NCAPG2 proteins interaction is known to control chromosome structure and we thus propose that double heterozygosity for null mutations of those two genes of the Condensin II system contribute to mental deficiency with severe microcephaly phenotype.

**Mots-clés :** 7qter deletion syndrome, Mental Deficiency,, Microcephaly

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A045/#61

### Holoprosencéphalie microforme et syndrome de Currarino : une microdélétion de 2,7 Mb localisée en 7q36.3 ne comprenant pas le gène SHH

Brice Poreau (1), Charles Coutton (2), Françoise Devillard (3), chantal Durand (4), Sylvie Odent (5), Céline Rozel (6), Gaëlle Vieville (3), Florence Amblard (3), Pierre Simon Jouk (1), Véronique Satre (2)

1. service de génétique clinique, département de génétique et procréation, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
2. laboratoire de génétique chromosomique et Université Joseph Fourier, AGIM CNRS FRE3405, Equipe "Andrologie, Génétique et Cancer", Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
3. laboratoire de génétique chromosomique, département de génétique et procréation, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
4. Service de radiopédiatrie, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
5. service de génétique médicale, Hôpital sud, Rennes, France
6. Service de radiologie et imagerie médicale, Hôpital sud, Rennes, France

**Auteur correspondant :** Poreau Brice (bbpcharles@hotmail.com)

L'holoprosencéphalie (HPE) est une malformation cérébrale, résultant d'un défaut de clivage du prosencéphale et dont la prévalence est estimée à 1/250 au moment de la conception. Les étiologies peuvent être environnementales ou génétiques. Le spectre clinique est très large allant de la forme lobaire à la forme la plus sévère alobaire. Des formes cliniques moins sévères, dites HPE microformes, avec hypotélorisme, incisive maxillaire médiane unique, sans malformations cérébrales majeures sont également décrites. Des mutations ou délétions du gène SHH, localisé en 7q36 sont responsables d'une partie des causes génétiques d'HPE, y compris les HPE microformes. Exceptionnellement, des réarrangements chromosomiques impliquant les enhancers situés en amont de SHH ont également été identifiés. Nous présentons le cas d'un patient avec une holoprosencéphalie microforme associée à un syndrome de Currarino. L'analyse chromosomique sur puce à ADN a révélé la présence d'une microdélétion de 2,7 Mb localisée en 7q36.3. Cette délétion emporte le gène MNX1, habituellement responsable du syndrome de Currarino, mais ne concerne pas le gène SHH, situé à la limite de celle-ci. En revanche, elle sépare SHH de ses enhancers cérébraux en particulier SBE4. Ce cas montre la nécessité de prendre en compte les enhancers potentiels de SHH dans l'holoprosencéphalie.

**Mots-clefs :** Holoprosencéphalie, délétion 7q36, Sonic Hedgehog

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A046/#91

### Anneau 19: à propos d'un cas

Belaid AIT ABDELKADER (1), Abdelkrim SAADI (2), Aicha BOUGHALEM (1), Ammar CHIKOUCHE (1), Amina BOUZERARA (1), Omar FEDAL (1), Yamina AMRANE (1), Karima ABBERABE (1), Kenza AMAROUCHE (1), Widad FADEL (1), Malika AIT ABDALLAH (1), Malika CHAOUICHE (2), Akila KHELIF (1), Tania SIDI SAID (1), Lakhdar GRIENE (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université Alger 1, Alger, Algérie
2. Service de Neurologie, Hôpital Ben Aknoun, Alger, Algérie

**Auteur correspondant :** AIT ABDELKADER Belaid (belgene.belaid@gmail.com)

Bien que rares, les chromosomes anormaux de forme circulaire, appelés anneaux chromosomiques, ont toujours été l'objet d'un grand intérêt. Leur structure particulière les rend instables lors des divisions cellulaires, entraînant un phénomène de mosaïque dynamique, lui-même cause d'une grande variabilité phénotypique. La structure en anneau est le résultat de la circularisation d'un chromosome à la suite d'une double délétion (une sur le bras court et une sur le bras long) et de la réunion des extrémités ainsi formées.

Notre patient B.A., âgé de 19ans, nous a été adressé pour retard mental (RM), épilepsie et autisme.

L'interrogatoire concernant ses antécédents familiaux ne montre aucune particularité. L'accouchement ainsi que la période néonatale n'auraient présenté aucune anomalie.

L'examen clinique montre un adolescent longiligne de 1,78 m, avec retard mental sévère (ne parle pas, ne marche pas, refusé de se faire examiner), agitation avec stéréotypies manuelles.

Le patient présente une dysmorphie faciale avec des sourcils épais, un prognathisme de la mâchoire supérieure, une grande bouche avec la lèvre inférieure éversée et des oreilles décollées.

A l'âge de 12 mois, B.A. a présenté des spasmes en flexion avec un tracé d'hypsarythmie à l'EEG, traité par Dépakine® et Mogadon®.

Le bilan réalisé à 16 mois (scanner cérébral, dosage d'enzymes lysosomiales MPS, fucosidase, mannosidase, recherche d'une phénylcétonurie) ne montre aucune anomalie. Une hypoacousie bilatérale a été diagnostiquée (chute bilatérale de 25 à 30db) quelques années plus tard.

Le patient, qui a marché à 2 ans et qui ne prononce que deux mots (papa, mama) à cet âge, présente depuis l'âge de 11 ans des crises d'épilepsie partielles et généralisées, traitées par Gardéal®.

Les études cytogénétiques réalisées chez ce patient ont permis de mettre en évidence l'existence de deux clones cellulaires :

Un clone cellulaire normal 46,XY, dans 6% des mitoses ;

Un clone cellulaire présentant un anneau du chromosome 19, dans 94% des mitoses analysées.

Une étude par CGH array est en cours de réalisation pour caractériser avec précision les points de cassures ainsi que les gènes emportés par la délétion, pour rechercher d'éventuelles corrélations phénotype-génotype.

**Mots-clefs :** Anneau, Chromosome, Retard mental

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A047/#92

### Double aneuploïdie en chimère d'une trisomie 21 et trisomie X

Belaid AIT ABDELKADER (1), Abdelkrim SAADI (2), Aicha BOUGHALEM (1), Ammar CHIKOUCHE (1), Amina BOUZERARA (1), Yamina AMRANE (1), Kenza AMAROUICHE (1), Karima ABBERABE (1), Widad FADEL (1), Tania SIDI SAID (1), Malika AIT ABDALLAH (1), Malika CHAOUICHE (2), Omar FEDAL (1), Akila KHELIF (1), Lakhdar GRIENE (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université Alger 1, Alger, Algérie
2. Service de Neurologie, Hôpital Ben Aknoun, Alger, Algérie

**Auteur correspondant :** AIT ABDELKADER Belaid (belgene.belaid@gmail.com)

L'enfant S.L âgée de 15 mois, deuxième d'une fratrie de deux, issue de parents non consanguins et sans ATCD familiaux, nous a été adressée pour trisomie 21. L'âge de la mère à la conception était de 37 ans.

Durant la grossesse, le suivi échographique a été régulier.

L'accouchement s'est effectué par voie basse à la 36ème semaine.

À la naissance, le nourrisson a présenté une hypotonie et des difficultés à s'alimenter.

Le développement psychomoteur de l'enfant : tient sa tête à 6 mois, se tient assise à 9 mois et ne se tient pas encore debout avec appui à 15 mois.

L'examen clinique montre un enfant avec un visage rond, un crâne trigonocéphale, un petit menton, un cou court, des oreilles basses, un front bombé, des yeux petits avec hypertélorisme et épicanthus, des cils long, des sourcils long et fins, une racine du nez absente, une pointe du nez ronde, une columelle courte, une petite bouche entrouverte, des lèvres fines, un philtrum court et des mains avec brachymétabasie sans pli palmaire.

Les examens biologiques, dont un bilan hormonal thyroïdien, les échographies abdominale et cardiaque, ne montrent aucune anomalie particulière.

Le caryotype réalisé chez cette fille montre la présence de deux types de cellules : 47,XXX[62] et 47,XX+21[38].

Le caryotype ne retrouve ni cellules présentant simultanément les deux aneuploïdies, ni cellules normales.

Une étude par biologie moléculaire est en cours pour déterminer l'origine parentale des deux trisomies.

**Mots-clés :** Aneuploïdie, Trisomie, Caryotype

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A048/#93

### Duplication inversée 2q21

Belaid AIT ABDELKADER (1), Abdelkrim SAADI (2), Aicha BOUGHALEM (1), Ammar CHIKOUCHE (1), Amina BOUZERARA (1), Omar FEDAL (1), Yamina AMRANE (1), Kenza AMAROUICHE (1), Karima ABBERABE (1), Widad FADEL (1), Tania SIDI SAID (1), Malika AIT ABDALLAH (1), Malika CHAOUICHE (2), Akila KHELIF (1), Lakhdar GRIENE (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université Alger 1, Alger, Algérie
2. Service de Neurologie, Hôpital Ben Aknoun, Alger, Algérie

**Auteur correspondant :** AIT ABDELKADER Belaid (belgene.belaid@gmail.com)

La duplication inversée de la partie distale d'un bras chromosomique est une anomalie chromosomique rare, décrite pour différents chromosomes, mais exceptionnellement observée sur le bras long du chromosome 2.

Le caractère inhabituel du remaniement a fait proposer un mécanisme pouvant faire appel à la recombinaison homologue.

La recombinaison homologue est le processus le plus fiable de restauration d'un brin cassé à partir de sa séquence homologue, présente soit sur la chromatide sœur, soit sur le chromosome homologue.

Notre patient, B. Akram, originaire d'Alger, de sexe masculin, est âgé de 18 mois à la première consultation. Il est le quatrième et dernier d'une fratrie bien portante. Ses parents ne sont pas consanguins et les antécédents familiaux sont sans particularité.

Akram est né à terme, suite à une grossesse où la maman a présenté un diabète gestationnel à partir du 5ème mois. A la naissance, ce garçon avait un poids de 3,900 kg, une taille de 50 cm et un périmètre crânien de 37cm.

L'examen clinique d'Akram, qui pèse 12 kg, montre la présence d'un retard de développement psychomoteur sévère (ne tient pas encore sa tête, ne se tient pas assis et ne marche pas).

Il présente des signes de dysmorphie crano-faciale, comme une macrocéphalie, des petites oreilles bas implantées, un cou court, des yeux obliques en bas et en dehors, un hypertélorisme, un strabisme divergent, un nez avec des ailes antérieures larges avec une columelle courte et la racine effacée, une grande bouche avec la lèvre supérieure en M et la lèvre inférieure inversée, des doigts larges et courts.

Les organes génitaux externes sont de phénotype masculin, avec présence d'une ectopie testiculaire.

Le reste de l'examen, qui comprend un bilan thyroïdien, une échographie abdomino-pelvienne et une IRM cérébrale, est sans particularité.

Les explorations cytogénétiques réalisées chez ce patient :

- mettent en évidence, au caryotype (RHG, 550 bandes), une duplication de la région 2q21, avec la formule chromosomique suivante : 46,XY,dup(2)(q21) ;
- confirment, par FISH, le caractère inversé de la duplication.

**Mots-clés :** Duplication, Chromosome, Caryotype



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A049/#104

### Syndrome microdélétionnel 3q27.3: une entité clinique reconnaissable associant une dysmorphie, un habitus marfanoïde, une déficience intellectuelle et des troubles psychotiques

Iben Bache (1), Patrick Callier (2), Salima El Chehadeh (3), Laurence Faivre (3), Jean-Paul Girod (4), Frédéric Huet (5), Bart Loeys (6), Valérie Malan (7), Cavaliere Maria-Luigia (8), Nathalie Marle (2), Alice Masurel-Paulet (3), Bjorn Menten (9), Anne-Laure Mosca-Boidron (2), Francine Mugneret (2), Antonio Novelli (10), Jean-Michel Pinoit (11), Christel Thauvin-Robinet (3), Julien Thevenon (3), Zeynep Tumer (12), Stanislas Lyonnet (13)

1. Department of Cellular and Molecular Medicine, Wilhelm Johannsen Centre for Functional Genome Research, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark

2. Laboratoire de Cytogénétique, Plateau Technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France

3. FHU Translad, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Université de Bourgogne, EA4271 GAD, CHU de Dijon, Dijon, France

4. Service de Pédiopsychiatrie, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon, Dijon, France

5. Service de Pédiatrie, CHU de Dijon, Dijon, France

6. 13 Department of Medical Genetics, Antwerp University Hospital and University of Antwerp, Antwerp, Belgique

7. INSERM U 781 & Département de Génétique, Université Paris Descartes, AP-HP, Paris, France

8. Medical Genetics, Azienda Ospedaliera "A. Cardarelli", Napoli, Italie

9. Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital & Ghent University, Ghent, Belgique

10. Mendel Laboratory, Casa Sollievo della Sofferenza Hospital, IRCCS, San Giovanni Rotondo, Roma, Italie

11. Service de Pédiopsychiatrie, CHU de Dijon, Dijon, France

12. Department of genetics, The Kennedy Center, Glostrup, Danemark

13. Université Paris Descartes—Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, et INSERM U-781, AP-HP, Paris, France

**Auteur correspondant :** Thevenon Julien (julien.thevenon@chu-dijon.fr)

**Contexte:** Depuis l'avènement de la CGH array, de nombreux syndromes microdélétionnels récurrents ont pu être définis et il reste un important travail de description des anomalies plus rares. Bien que la microdélétion subtélomérique 3q29 soit un syndrome bien défini, aucune microdélétion interstitielle 3q n'a été décrite.

**Objectif et méthodes :** Nous rapportons la première description clinique de 7 patients porteurs de microdélétions interstitielles 3q27.3q28 réunis grâce au réseau Decipher.

**Résultats :** Les patients présentaient une dysmorphie faciale commune, un habitus marfanoïde, associés à des troubles psychotiques avec dysthymie et une déficience intellectuelle (DI) modérée à sévère. Un cas familial avec une microdélétion plus petite a permis la définition de deux régions d'intérêt. La première, localisée au locus 3q27.3 et commune à tous les patients, était associée aux troubles psychotiques avec dysthymie avec une dysmorphie faciale récurrente. Cette région comprenait plusieurs gènes, dont SST considéré comme candidat aux troubles psychiatriques par son implication dans la migration et la différenciation des interneurons. La seconde région était associée à la DI sévère et à l'habitus marfanoïde. Les 4 patients concernés présentaient des manifestations cliniques du spectre marfanoïde comprenant : une scoliose (4/4), un habitus longiligne (4/4), une arachnodactylie (3/4), une anomalie du pectus (2/4). Ces 4 patients présentaient une maigreur avec un Indice de Masse Corporelle moyen de 15 (normale > 18.5). Le phénotype pourrait notamment être expliqué par la délétion du gène AHSG, codant pour une protéine matricielle impliquée dans la voie du TGF bêta.

**Conclusion :** Ce travail souligne l'importance des bases de données publiques en ligne indispensables à la description de cas rarissimes. Une démarche collaborative internationale a permis la description de ce nouveau syndrome microdélétionnel associant une dysmorphie

faciale reconnaissable, un habitus marfanoïde avec scoliose, des troubles psychiatriques du spectre psychotique et une DI.

**Mots-clefs :** microdélétion 3q27.3, CGH-array, Decipher

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A050/#105

### L'haploinsuffisance de SALM1 cause un déficit sélectif de mémoire de travail

Magali Avila (1), Marlène Bonnet (2), Patrick Callier (3), Virginie Carmignac (4), Lucie Corbin (5), Laurence Duplomb (4), Inna Dygai-Cochet (6), Salima El Chehadeh (7), Laurence Faivre (7), Sébastien Gay (8), Eric Guedj (9), Frédéric Huet (1), Nathalie Marle (3), Alice Masurel-Paulet (7), Delphine Minot (7), Anne-Laure Mosca-Boidron (3), Francine Mugneret (3), Gail K. Seabold (10), Céline Souchay (5), Christel Thauvin-Robinet (7), Julien Thevenon (7)

1. Service de Pédiatrie, CHU de Dijon, Dijon, France

2. Centre de Référence des Troubles du Langage et des Apprentissages, CHU de Dijon, Dijon, France

3. Laboratoire de Cytogénétique, Plateau Technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France

4. Equipe GAD, EA 4271, Université de Bourgogne, Dijon, France

5. LEAD-CNRS UMR 5022, Laboratoire d'Etude de l'Apprentissage et du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France

6. Nuclear Medicine Department, CGFL, Dijon, France

7. FHU Translad, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Université de Bourgogne, EA4271 GAD, CHU de Dijon, Dijon, France

8. Service de Pédiatrie, CH William Morey, Chalon sur Saône, France

9. Nuclear Medicine Department, AP-HM, Marseille, France

10. Laboratory of Neurochemistry, NIDCD/National Institutes of Health, Bethesda, USA

**Auteur correspondant :** Thevenon Julien (julien.thevenon@chu-dijon.fr)

**Contexte :** L'usage de la CGH-array dans la déficience intellectuelle a notablement accru le nombre de gènes impliqués dans ce groupe hétérogène de pathologies. Les gènes candidats ont renforcé l'implication de facteurs de transcription post-mitotiques et de facteurs synaptiques dans les troubles des fonctions cognitives. L'existence de cause monogénique dans les troubles des apprentissages est beaucoup moins décrite, et les exemples restent exceptionnels.

**Méthodes et résultats :** A partir d'une famille comprenant une mère et ses deux filles présentant un trouble des apprentissages co-ségrégant de manière dominante avec une microdélétion de 870kb au locus 6p21, nous démontrons les conséquences de l'haploinsuffisance du gène LRFN2/SALM1 dans le phénotype. Ce gène a été jugé candidat car il code pour une protéine d'expression cérébrale de localisation post-synaptique. L'évaluation neuropsychologique de cette famille a identifié un déficit sélectif de la mémoire de travail, sans déficience intellectuelle associée. Des évaluations plus poussées ont caractérisé un déficit des fonctions exécutives et attentionnelles. Ces données sont cohérentes avec l'imagerie cérébrale anatomique et fonctionnelle montrant une atrophie modérée et un hypométabolisme de régions impliquées dans le réseau neuronal de la mémoire de travail. Une immuno-colocalisation démontre l'étroite co-localisation de LRFN2/SALM1 avec la sous unité NR1 du récepteur NMDA (NMethyl- D-Aspartate) dans les parties latérales de la densité post-synaptique de neurones hippocampiques et cérébelleux de rats.

**Conclusion :** Ces données issues d'approches combinées et transdisciplinaires (cliniciens et chercheurs spécialisés dans les troubles des apprentissages, neuroradiologues et biologistes cellulaires) soulignent l'implication de LRFN2/SALM1 dans les troubles des apprentissages, et plus spécialement dans les processus de mémoire de travail et des fonctions exécutives. Ces résultats ont permis de proposer une prise en charge adaptée de rééducation de la mémoire de travail aux patients.

**Mots-clefs :** déficit de mémoire de travail, trouble des apprentissages, gène SALM1

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A051/#117

### Identification d'une duplication 7q32 de novo créant un gène de fusion comportant la séquence codante complète de la leptine chez un patient présentant une anorexie précoce inexpliquée

Eva Pipiras (1), Sophie Lebon (2), Thérèse Wilhem (3), Loïc de Pontual (4), Béatrice Dubern (5), Irène Netchine (6), Florent Bouteloup (7), Ayala Rakkah (8), Myriam Oufadem (9), Vincent El Ghouzi (7), Nicolas Vogt (3), Jean-François Benoist (10), Jean-Marc Lacorte (11), Patrick Tounian (5), Jeanne Amiel (12), Michel Debatisse (3), Yves Le Bouc (13), Nicolas de Roux (2), Pierre Gressens (2), Brigitte Benzacken (14), Andrée Delahaye (1)

1. Service d'Histologie, Embryologie, et Cytogénétique, AP-HP, Hôpital Jean Verdier ; Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, UFR SMBH ; INSERM, U676, Paris, France

2. U676, INSERM; Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

3. UMR 32344, Institut Curie, Paris, France

4. Service de Pédiatrie, AP-HP Hôpital Jean Verdier; Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, UFR SMBH; INSERM, U781, Institut IMAGINE, Paris, France

5. Service de Nutrition, AP-HP, Hôpital Trousseau; Université Pierre et Marie Curie-Paris 6; INSERM, U872, Paris, France

6. Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, AP-HP, Hôpital Trousseau; Université Pierre et Marie Curie-Paris 6; INSERM, UMRS-938, Paris, France

7. U676, INSERM, Paris, France

8. Service d'Histologie, Embryologie, et Cytogénétique, AP-HP Hôpital Jean Verdier, Bondy, France

9. U781, INSERM, Institut Imagine, Paris, France

10. Laboratoire de Biochimie Hormonologie, AP-HP, Hôpital Robert Debré; U676, INSERM, Paris, France

11. U872, INSERM; Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris, France

12. Département de Génétique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants-Malades; INSERM, U781, Université Paris-Sorbonne Cité, Institut IMAGINE, Paris, France

13. Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, AP-HP, Hôpital Trousseau; Université Pierre et Marie Curie-Paris 6; INSERM, UMRS-938, Paris, France

14. Service d'Histologie, Embryologie, et Cytogénétique, AP-HP, Hôpital Jean Verdier; Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, UFR SMBH; U676, INSERM, Paris, France

**Auteur correspondant** : Delahaye Andrée (andree.delahaye@inserm.fr)

Une duplication 7q32 de novo impliquant le gène LEP a été identifiée chez un patient présentant une anorexie précoce inexpliquée associée à une insuffisance pondérale. Le gène LEP code pour la leptine, hormone produite essentiellement par les adipocytes qui joue un rôle clé dans la régulation de l'appétit en régulant certains neurones hypothalamiques possédant des récepteurs de la leptine.

L'étude en PCR quantitative des transcrits des 7 gènes inclus dans la duplication montre qu'ils sont surexprimés dans les fibroblastes du patient par rapport aux témoins. Malgré la surexpression du gène LEP, le dosage de la leptine plasmatique est normal chez ce patient.

La duplication initialement identifiée par une analyse chromosomique sur puce à ADN (SNP Illumina 300K) a été caractérisée plus précisément en utilisant les techniques de "Whole Genome Sequencing" et de peignage moléculaire. La duplication est orientée en tandem direct et le point de cassure avec nouvelle adjacence de séquences crée un gène de fusion. La partie 5' du gène de fusion est un gène inconnu dans les bases de données du génome humain. Nous l'avons dénommé TLK2P car par homologie de séquence, il correspond à un pseudogène du gène TLK2 (situé sur le chromosome 17 humain). La partie 3' du gène de fusion correspond aux exons codants du gène LEP. L'étude des transcrits de fusion a identifié 2 isoformes qui sont prédites in silico être traduites en protéine de fusion comportant la séquence complète de la leptine avec en N-terminal une séquence protéique additionnelle proche de la séquence de l'extrémité N-terminale de TLK2 qui contient un signal de localisation nucléaire. L'étude en immunofluorescence en utilisant un anticorps anti-leptine

sur des fibroblastes du patient montre une localisation nucléaire de l'immunomarquage augmentée par rapport aux témoins.

Des analyses complémentaires sont en cours pour tester l'hypothèse d'une production ectopique d'une protéine de fusion comportant la séquence complète de la leptine et activant les voies du récepteur de la leptine de manière autocrine/paracrine directement au sein de l'hypothalamus, ce qui expliquerait l'anorexie du patient. Au delà de ces résultats préliminaires, ce travail donne un aperçu des méthodes actuelles permettant de caractériser une duplication.

**Mots-clés** : gène de fusion, leptine, whole genome sequencing

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A052/#126

### cardiomyopathie dilatée hypokinétique et réarrangements génomiques complexes : présentation d'un cas original

Séverine AUDEBERT-BELLANGER (1), Sylvia REDON (2), Caroline BENECH (3), Violaine LAPARRA (4), Hélène ANSQUER (4), Jacques MANSOURATI (5), Philippe CHARRON (6), Claude FEREC (7)

1. Pédiatrie et Génétique Médicale, CHRU Morvan, Brest, France
2. Laboratoire de Génétique moléculaire et épidémiologie, CHRU Morvan, Brest, France
3. Etablissement Français du Sang, CHRU, Brest, France
4. Pédiatrie, CHRU Morvan, Brest Cedex, France
5. Soins intensifs cardiologie, CHRU Morvan, Brest Cedex, France
6. Centre de référence pour les maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
7. INSERM U1078, CHRU Morvan, BREST, France

**Auteur correspondant :** AUDEBERT-BELLANGER Séverine  
(severine.audebert@chu-brest.fr)

Nous rapportons le cas d'un nourrisson né à 33 SA atteint d'une cardiomyopathie dilatée hypokinétique avec dysplasie tricuspide de diagnostic anténatal avec caryotype standard : 46,XX. Cet enfant est né avec des mensurations en accord avec le terme sans syndrome dysmorphique. Il a présenté des extrasystoles auriculaires et ventriculaires ainsi qu'une tachycardie ventriculaire. Après 2 mois de réanimation, cette petite fille est décédée. L'autopsie a confirmé le diagnostic de cardiomyopathie dilatée globale prédominant à droite, aspect de fibro-élastose du ventricule gauche sans anomalie anatomique malformative. Le bilan cardiaque réalisé secondairement chez les parents et leurs apparentés au 1er degré a permis de retrouver chez le père une DVDA localisée, un bilan normal chez les autres apparentés.

L'analyse par CGH-array réalisée sur l'ADN de l'enfant et de ses parents a montré deux réarrangements génomiques complexes respectivement sur les gènes PARK2 localisé en 6q26 et PKP2 situé en 12p11.21. Le premier est une délétion hétérozygote composite de PARK2 qui consiste en une délétion paternelle de l'exon 4 et une délétion maternelle de l'intron 1. Le second associe une délétion hétérozygote de la totalité du gène PKP2 d'origine maternelle et une délétion partielle du gène d'origine paternelle, entraînant chez l'enfant une délétion homozygote des exons 2 à 7 de PKP2.

PARK2 code la parkinson protein2, E3 ubiquitin protein ligase (parkin) qui protégerait les neurones des attaques cellulaires telles que la toxicité par l'alpha-synucléin. Des mutations du gène sont associées à la maladie juvénile de Parkinson de transmission autosomique récessive et 50 à 80% des mutations sont des réarrangements structuraux du gène. Des mutations du gène PARK2 sont retrouvées chez 10% des patients atteints de formes précoces de la maladie de Parkinson.

La plakophiline-2 (PKP-2) est une protéine participant à la formation du desmosome cardiaque. L'invalidation de PKP2 chez la souris entraîne un défaut létal de l'organogenèse cardiaque. L'haploinsuffisance de PKP-2 induit une altération du couplage électrique des myocytes par dysfonction du canal sodium, responsable d'arythmie. PKP-2 est impliquée dans la CVD/DVDA (cardiomyopathie/dysplasie ventriculaire droite arythmogène) ou plus rarement dans la cardiomyopathie dilatée. Il s'agit d'une maladie cardiaque autosomique dominante entraînant des arythmies ventriculaires et la mort subite en est la complication la plus redoutée.

La délétion homozygote de notre sujet explique la forme anormalement précoce et sévère de la cardiomyopathie. Il s'agit d'une observation inhabituelle car les formes néonatales de cardiomyopathie génétique sont très rares et un remaniement large de PKP2 n'est pas classique. La maladie néonatale a été révélatrice de la maladie génétique dans la famille et l'analyse post mortem par CGH array a permis d'identifier la cause génétique et de mettre en place le conseil génétique et la surveillance familiale.

**Mots-clefs :** cardiomyopathie dilatée hypokinétique, CGH-array, PKP2, PARK2

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A053/#149

### Remaniements complexes du chromosome 9 : Discordance entre caryotype et CGH-array

Emilie Landais (1), Nathalie Bednarek (2), Christelle Sommer (2), Jacques Motte (3), Christelle Coquelet (4), Christelle Mangeonjean (5), Nadine Gruson (5), Audrey Lannoy (5), Dominique Gaillard (5), Martine Doco-Fenzy (5)

1. PRBI, CHU Reims, REIMS, France
2. Service de Pédiatrie B, CHU Reims, REIMS, France
3. Service de Pédiatrie A, CHU Reims, REIMS, France
4. Tumorothèque Champagne Ardenne, CHU Reims, REIMS, France
5. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU Reims, REIMS, France

**Auteur correspondant :** LANDAIS Emilie (elandais@hotmail.fr)

Les remaniements impliquant les extrémités télomériques sont retrouvés chez 3% à 5% des enfants présentant une déficience intellectuelle et/ou des malformations congénitales. Des délétions terminales du bras court du chromosome 9 ont été rapportées dans plus de 150 cas, soit en délétion pure, soit dérivées d'une translocation parentale, soit associées à une duplication. Les principales manifestations cliniques sont un retard de développement, une déficience intellectuelle, une trigonocéphalie, une dysmorphie faciale, des anomalies génitales et d'autres malformations mineures.

Dans cette étude, nous rapportons la présence d'un remaniement complexe du chromosome 9 retrouvé chez un nouveau né hospitalisé pour une hypotonie axiale majeure associée à des troubles de succion. Cet enfant revu à l'âge de deux ans présente un encéphalopathie non étiquetée, un syndrome de West, des troubles importants de l'alimentation nécessitant une gastrostomie, une dysmorphie faciale modérée, une plagiocéphalie et une cryptorchidie bilatérale.

L'étude cytogénétique composée d'un caryotype en haute résolution a été complétée par les analyses de CGH-array associées aux techniques de PCR en temps réel et FISH.

La technique de CGH-array réalisée sur un prélèvement sanguin a mis en évidence un remaniement de structure complexe du chromosome 9 composé d'une délétion terminale de 12,9 Mb associée à plusieurs amplifications à type de duplication en 9p23 (48 kb) et 9p22 (4,9 Mb) et triplication en 9p23p22.3 (1,1 Mb). Nous avons également observé une déviation significative des autres sondes localisées sur le chromosome 9, résultat compatible avec la présence d'une trisomie 9 totale en mosaïque (estimée à environ 50%). Ces données ont été confirmées par PCR en temps réel. La délétion terminale a été également retrouvée par la technique de FISH sur les lymphocytes cultivés. En revanche, la trisomie 9 n'a été visualisée ni sur le caryotype ni par FISH sur une centaine de mitoses et noyaux.

A partir de cette discordance, dans l'hypothèse d'une mosaïque tissulaire, une séparation cellulaire par ficoll a été réalisée sur un deuxième prélèvement sanguin afin d'obtenir une fraction enrichie en cellules mononucléées (en particulier en lymphocytes) et une fraction appauvrie (culot cellulaire contenant majoritairement des polynucléaires). Les analyses en CGH-array réalisées sur ces fractions ont mis en évidence le remaniement complexe en 9p mais ne retrouvent pas de trisomie 9 complète.

Les différentes hypothèses pour expliquer ces discordances seront détaillées dans la présentation.

**Mots-clefs :** CGH-array, délétion 9p, caryotype

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A054/#152

### Un cas unique de trisomie 3p partielle de novo

Manal Dayem-Quere (1), Fabienne Giuliano (1), Houda Karmous-Benailly (1), Véronique Paquis-Fluckinger (1), Morgane Plutino (1), Amandine Boureau-Wirth (1)

1. Service de génétique médicale, Hôpital Archet 2, Nice, France

**Auteur correspondant :** Plutino Morgane (plutinomorgane@gmail.com)

En 1972, Réthoré et al. ont rapporté pour la première fois l'observation de 3 cousins germains présentant une trisomie 3p partielle. Le phénotype de cette trisomie 3p est caractérisé par : un retard psychomoteur, une cardiopathie congénitale, une dysmorphie faciale, une brachycéphalie, une microcéphalie, des malformations urinaires, une hypotonie et une hypoplasie génitale.

Cependant, une corrélation génotype-phénotype est difficile à réaliser car, majoritairement, les cas décrits dans la littérature sont associés à des délétions impliquant un autre chromosome.

Nous rapportons ici le cas d'une patiente de 2 ans qui présente un retard du développement psycho-moteur, une tétralogie de Fallot, une anomalie de la jonction pyélo-urétérale, une dysmorphie faciale, une microcéphalie et un retard de croissance.

Nous avons mis en évidence sur le caryotype sanguin de cette patiente, un excédent de matériel génétique sur le bras court d'un chromosome 22, probablement originaire du chromosome 3. Cette hypothèse a été confirmée avec les peintures chromosomiques FISH des chromosomes 3 et 22.

Pour mieux caractériser les points de cassure, nous avons réalisé une CGH-array qui a montré une duplication de 3p14 à 3pter (d'une taille de 54,6Mb) sans délétion associée. Les caryotypes parentaux étaient normaux et nous ont permis de conclure que cette anomalie était survenue de novo.

Nous avons tenté dans cette étude de décrire les mécanismes en cause de cette anomalie.

Cette duplication partielle en 3p nous permet de sélectionner des gènes candidats responsables des multiples anomalies que présente notre patiente et de mieux les caractériser.

**Mots-clés :** Duplication 3p, Cardiopathie, Retard de développement psychomoteur

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A055/#156

### Caractérisation par CGH array d'une délétion interstitielle en 1p21-p13.2 chez un garçon atteint d'une déficience intellectuelle sévère.

Hela Ben Khelifa-Kaabia (1), Soumaya Mougou-Zrelli (2), Najla Soyah (3), Audrey Labalme (4), Damien Sanlaville (4), Ali SAAD (2)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

2. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

3. Département de Pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

4. Laboratoire de Cytogénétique, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Ben Khelifa-Kaabia Hela (bkhelifahela@yahoo.com)

Les microdélétions subtélomériques du bras court du chromosome 1 font partie des microremaniements chromosomiques les plus fréquentes de la déficience intellectuelle. Cependant, les délétions interstitielles 1p sont rares et n'ont pas été associées avec un phénotype spécifique. Nous rapportons ici le cas d'un garçon issu d'un mariage consanguin du premier degré avec une fratrie en bonne santé. L'examen clinique a révélé une déficience intellectuelle sévère associée à un retard psychomoteur, une dysmorphie faciale et des malformations cérébrales. Les examens échographiques et métaboliques sont revenus normaux. Le caryotype sanguin (RHG, 550 bandes) n'a révélé aucune anomalie chromosomique. L'hybridation génomique comparative 180K a mis en évidence une délétion au niveau de la région 1p21-p13.2 de 7,679,721 pb : arr1p21-p13.2 (104,307,649-111,987,369)X1. Cette délétion a couvert 65 gènes dont NTNG1, ALX3, GP2SM2 et VAV3. Cette perte a été confirmée par hybridation in situ fluorescente sur des chromosomes métaphasiques en utilisant la sonde RP11-341D24 (Position : 105, 067,245-105, 244,404). L'analyse des parents est revenue normale.

Dans la littérature, quelques cas ont rapporté des délétions interstitielles touchant la bande chromosomique 1p13 ou 1p21 associées à un tableau neurologique sévère et il a été démontré que les gènes localisés à ce niveau sont impliqués dans les problèmes neurologiques observés chez les patients portant cette délétion. En effet, selon NCBI, le gène NTNG1 code pour des protéines qui jouent le rôle des signaux de guidage des axones et le gène GP2SM2 est connu pour son implication dans la manifestation des malformations cérébrales. Ainsi, notre étude suppose que l'haploinsuffisance des gènes NTNG1 et GP2SM2 a contribué au phénotype de notre patient. Des investigations plus larges des gènes suscités sont recommandées afin de mieux élucider leurs fonctions protéiques.

**Mots-clés :** Délétion 1p21-p13.2, CGH array, Déficience intellectuelle



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A056/#157

### Délétion 16q22.1q23.2: à propos d'un cas avec luxations congénitales des hanches et des genoux et omphalocèle

Anne-Marie Guerrot (1), Pascal Chambon (2), Alice Goldenberg (3), Julien Leroux (4), Agnès Liard-Zmuda (4), Didier Pinquier (5), Thierry Frebourg (6)

1. Département de Génétique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
3. Département de génétique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
4. Service de Chirurgie Pédiatrique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
5. Service de néonatalogie et réanimation pédiatrique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
6. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Guerrot Anne-Marie (a\_bodiou@yahoo.fr)

Depuis la première description d'une délétion interstitielle du bras long du chromosome 16 par Fryns et al en 1977, environ 30 cas ont été rapportés. La présentation clinique habituelle associe un retard de croissance, une déficience intellectuelle, une hypotonie, des troubles de la déglutition et une dysmorphie faciale. Nous rapportons le cas d'une patiente née à terme présentant une microcéphalie, une dysmorphie faciale (grande fontanelle antérieure, front haut, élargissement de la racine du nez, hypertélorisme, fentes palpébrales étroites, oreilles bas implantées et mal ourlées, palais ogival) et un syndrome malformatif diagnostiqué à la naissance associant hernie dans le cordon et luxations congénitales des hanches et des genoux. L'évolution digestive a été simple après traitement chirurgical. L'examen clinique à sept mois montre une hypotonie, un retard de croissance et une luxation des hanches persistant malgré le traitement orthopédique. Les explorations chromosomiques par CGH array (lame Agilent 4x180K) ont révélé l'existence de 2 CNV non polymorphiques : une duplication 16q22.1 de 621 Kb chevauchant 5 gènes et une délétion 16q22.1q23.2 de 10,6 Mb emportant près de 80 gènes (arr 16q22.1(67,005,717-67,626,883)x3, 16q22.1q23.2(67,947,587-78,621,478)x1). La duplication et la délétion ont respectivement été confirmées par QMPSU et par FISH et nous avons montré que les deux CNV sont survenus de novo. L'interprétation de la duplication 16q22.1 reste à ce jour incertaine en dépit de sa taille et de son caractère de novo. La taille de la délétion 16q22.1q23.2, le nombre de gènes emportés, son caractère de novo ainsi que les données publiées sont clairement en faveur de son caractère pathogène. Près d'une trentaine de délétions concernant différentes régions du bras long du chromosome 16 ont été rapportées à ce jour. La description clinique de ces patients comporte un retard mental, un retard de croissance, une hypotonie, des difficultés alimentaires et une dysmorphie faciale comparable à celle de la patiente. Si des malformations viscérales ont été décrites chez des patients porteurs de délétion interstitielle du bras long du chromosome 16, il n'a jamais été décrit de luxations des hanches et des genoux ni d'omphalocèle. Les luxations congénitales du genou sont des malformations rares (1/100 000 naissances), s'intégrant parfois dans un cadre syndromique (syndrome de Larsen, arthrogrypose, dysplasie spondylo-épiphytaire, syndrome d'Ehler-Danlos, trisomie 21). Cette malformation est rarement isolée et s'associe dans la majorité des cas à d'autres anomalies des membres et en particulier à une dysplasie de hanche. Ce cas clinique permet donc d'élargir le phénotype du syndrome de délétion 16q.

**Mots-clés :** luxation des genoux, omphalocèle, luxation des hanches

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A057/#176

### Mise en œuvre de différentes techniques pour cloner des points de cassure de remaniements chromosomiques de novo apparemment équilibrés.

Anouck SCHNEIDER (1), Vincent GATINOIS (1), Manon GIRARD (1), Magali TOURNIAIRE (1), Mélanie DI NICOLA (1), Geneviève LEFORT (1), Franck PELLESTOR (1), Patricia BLANCHET (2), Christine COUBES (2), Emmanuelle HAQUET (2), Lucile PINSON (2), Pierre SARDA (2), Marjolaine WILLEMS (2), David GENEVIEVE (2), Bee LING NG (3), Jacques PUECHBERTY (2)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. The Wellcome Trust Sanger Institute, Cytometry Core Facility, Wellcome Trust Genome Campus, Cambridge, Royaume-Uni

**Auteur correspondant :** SCHNEIDER Anouck (a-schneider@chu-montpellier.fr)

Les étiologies du retard psychomoteur (RPM) sont multiples : génétiques, environnementales, ou indéterminée. Des anomalies chromosomiques sont identifiées dans 15% des RPM syndromiques. Les translocations chromosomiques réciproques équilibrées sont observées chez 1 individu sur 1000 et seulement 6% des patients avec une translocation réciproque de novo apparemment équilibrée ont un phénotype anormal.

L'analyse de la littérature révèle que l'étude systématique par puces à ADN des patients avec RPM et porteurs d'une translocation de novo apparemment équilibrée permet d'identifier dans 40 % des cas une anomalie infracytogénétique mais dans 60% des cas, aucune anomalie n'est retenue et ce avec une résolution jusqu'à 25 kb. De ce fait, l'hypothèse de l'interruption d'un ou plusieurs gènes au niveau ou dans le voisinage des points de cassure est envisagée.

Au laboratoire de Génétique Chromosomique du CHRU de Montpellier nous avons testé différentes techniques pour cloner et étudier les points de cassure des remaniements de novo apparemment équilibrés chez des patients avec un RPM et sans aucune anomalie retenue sur puces à ADN :

- la marche sur le chromosome par FISH à l'aide de sondes non commerciales (BAC/PAC),
- l'array-painting qui correspond à l'hybridation sur puces à ADN chacun des dérivés chromosomiques préalablement séparés par Cytométrie en Flux,
- et le séquençage haut débit.

Nous présentons les avantages et les inconvénients de chaque technique, ainsi que nos résultats que nous comparons aux données de la littérature.

**Mots-clés :** Points de cassure chromosomiques, Array-painting, Séquençage haut débit

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A058/#180

### Délétion Yq12 héritée associée à une cataracte congénitale bilatérale, microphthalmie et autisme chez 3 frères

Pierre BITOUN (1), Brigitte BENZACKEN (2), Andrée DELAHAYE-DURIEZ (3), Eva PIPIRAS (2)

1. Génétique Médicale, Hôpital Jean Verdier, AP-HP CHU Paris Nord, Bondy, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, AP-HP CHU Paris Nord, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, AP-HP CHU Paris Nord, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France

**Auteur correspondant :** Bitoun Pierre (bitoun@gmail.com)

#### Objectif :

Après avoir testé une cohorte de 65 patients atteints de divers troubles oculaires syndromiques par CGH array à la recherche de CNV après consentement éclairé sur puce Agilent nous poursuivons cette étude sur puce Illumina. Nous avons identifié une fratrie de jumeaux dizygotes masculins ainsi qu'un frère aîné tous atteints de cataracte congénitale bilatérale, microphthalmie possiblement secondaire et autisme sévère avec retard cognitif, absence de langage et introversion avec trouble massif de la communication et de l'interaction sociale agés respectivement de 29 et 30 ans .

#### Méthodes

Nous avons utilisé la plateforme SNP de CGH Illumina avec Human Cyto SNP 12, et 300k marqueurs sur génome complet à partir d'ADN extrait de cellules de lignées lymphoblastoïdes. Les logiciels Illumina Genome Studio 2010.3 et CNV partition 3.1.6 ont été utilisés avec la référence de NCBI build 36 (hg18). Les patients ont été examinés par IRM cérébrale, et génotypés à la recherche de mutation de SOX2, OTX2, RAX and PAX6. L'ADN a été extrait de cellules lymphoblastoïdes et les cellules en culture ont été utilisées pour confirmation de CNV par FISH.

#### Résultats

Une délétion de 296.8 Kb dans la région Yq12 a été identifiée et confirmée par FISH sur cellules lymphoblastoïdes en métaphase avec la sonde amplitech sous-télomérique Yq/Xq chez les 3 jeunes hommes et leur père sain. Les 3 jeunes avaient une IRM cérébrale normale et la recherche de mutation de SOX2, OTX2, RAX and PAX6 par séquençage était négative. Cette délétion Yq12 est située dans la région Pseudo-Autosomale de l'Y PAR2 identique à la région Xq28. Le rôle possible de ces 3 gènes délétés dans l'apparition du trouble de type autistique sera discuté , le fait que le père sain soit porteur de la délétion ne pouvant exclure a priori son rôle pathogène.

#### Discussion:

La survenue de cataractes tardives dans les lignées maternelle et paternelle avec des parents non atteints peut faire discuter d'une cataracte isolée indépendante du trouble autistique transmise en dominance ou en récessivité bien que peu probable vu le caractère congénital de la cataracte chez les 3 sujets.

La délétion contient 3 gènes dont il est difficile d'affirmer formellement la causalité dans ce nouveau CNV sur la pathologie de type autistique avec cataracte et microphthalmie observée chez les trois frères.

**Mots-clés :** AUTISME, CATARACTE, MICRODELETION

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A059/#191

### Duplications du gène SHOX et syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (aplasie congénitale utéro-vaginale) : la fin d'une controverse ?

Karine Morcel (1, 2), Solène Duros (1, 2), Lydia Flaux (2), Pauline Berneau (2), Sophie Julia (3), Daniel Guerrier (2)

1. Pôle d'Obstétrique Gynécologie et Médecine de la Reproduction, CHU Rennes, Rennes, France
2. CNRS, UMR 6290, IGDR, Université de Rennes 1, Rennes, France
3. Service de Génétique, CHU Toulouse, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Morcel Karine (karine.morcel@chu-rennes.fr)

**Introduction.** Le syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) est caractérisé par une aplasie utéro-vaginale congénitale, fréquemment associée à d'autres malformations, essentiellement rénales et squelettiques, chez des femmes ayant un caryotype standard normal. Son origine est multigénique. Plusieurs régions chromosomiques candidates ont été identifiées : 1q21.1, 4q34-qter, 7q14.3, 16p11.2, 17q12, 22q11.2 et Xq21.31, et des mutations des gènes TBX6 (16p11.2) et LHX1 (17q12) ont été décrites. Cependant, dans la majorité des cas, les gènes impliqués sont encore inconnus. La littérature récente fait état de deux études portant sur le gène SHOX et dont les résultats sont contradictoires : l'une retrouvant 5 cas de duplications de ce gène sur une cohorte de 30 patientes [1] ; l'autre portant sur 101 patientes ne retrouvant pas d'implication de ce gène [2]. Devant ces résultats discordants, nous avons voulu évaluer la prévalence d'une duplication du gène SHOX dans une cohorte nationale de 67 patientes.

**Méthodes.** Nous avons réalisé une analyse génomique par la même approche de MLPA à l'aide du kit SALSA® MLPA® P018-F1 SHOX chez ces 67 patientes.

**Résultats.** Nous avons retrouvé un cas de duplication totale et 3 cas de duplication partielle du gène SHOX, dont l'une est identique à celle d'un des cas de la cohorte de Gervasini et al [1].

**Discussion.** Le gène SHOX est localisé dans la région pseudo-autosomale des chromosomes X (Xp22.33) et Y (Yp11.3), échappant ainsi à l'inactivation du chromosome X. Les mutations et délétions de ce gène sont associées à plusieurs syndromes malformatifs osseux : la dyschondroostéose de Léri-Weill, la dysplasie mésomélique de Langer et le syndrome de petite taille idiopathique. A l'inverse, les conséquences d'une duplication de ce gène sont mal connues : des expériences sur modèle animal ont montré qu'une surexpression de ce gène n'aurait d'incidence que sur la différenciation osseuse [3]. Ainsi, deux hypothèses peuvent être avancées pour rendre compte du syndrome MRKH : soit l'augmentation du nombre de copies du gène SHOX interfère directement dans le contrôle du développement embryonnaire du tractus génital, soit les duplications de ce gène sont couplées à une recombinaison non homologue interrompant spécifiquement un gène candidat pour le syndrome MRKH. Le spectre phénotypique des malformations connues pour être associées à une anomalie du gène SHOX étant très éloigné de celui du MRKH, la deuxième hypothèse nous semble plus probable. Les données de cette étude, associées à celle de la littérature, renforcent donc l'implication indirecte du gène SHOX dans ce syndrome même si la prévalence reste assez faible (

[1] Gervasini et al., Genet. Med. 2010

[2] Sandbacka et al., Orphanet J Rare Dis. 2011

[3] Tiecke et al., Dev. Biol. 2006

**Mots-clés :** gène SHOX, Syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser, Aplasie Müllérienne

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A060/#201

### Délétion 17p12 (PMP22) découverte fortuitement par ACPA : la neuropathie héréditaire avec hypersensibilité à la pression est-elle sous-diagnostiquée ?

Caroline Schluth-Bolard (1), Joris Andrieux (2), Boris Keren (3), Adeline Vigouroux-Castera (4), Laurence Bouneau de Tarragon (4), Dominique Bourgeois (4), Martine Doco-Fenzy (5), Emilie Landais (6), Nathalie Marle (7), Agnès Guichet (8), Sylvie Jaillard (9), Caroline Rooryck-Thambo (10), Audrey Labalme (11), Aurelia Jacqueline (3), Gaétan Lesca (12), Marie-Pierre Cordier (13), Chloé Quelin (14), Philippe Loget (14), Bruno Delobel (15), Marion Gérard (16), Muriel Holder (17), Bénédicte Demeer (18), Vincent Des Portes (19), Marianne Till (20), Christel Thauvin-Robinet (21), Patrick Ederly (12), Damien Sanlaville (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Equipe TIGER, Lyon, France
2. Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
3. Département de Génétique, CHU Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse, France
5. Service de Génétique, CHU Reims, EA 3801 SFR CAP Santé, Université de Reims, Reims, France
6. Service de Génétique, CHU Reims, Reims, France
7. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
8. Service de Génétique, PBH, CHU Angers, Angers, France
9. Service de Cytogénétique, Hôpital Pontchaillou, CHU Rennes, Rennes, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux Pellegrin, Bordeaux, France
11. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
12. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Equipe TIGER, Lyon, France
13. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
14. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
15. Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Lille, France
16. Service de Génétique, Hôpital Clémenceau, CHU Caen, Caen, France
17. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
18. Unité de Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, CHU Amiens, Amiens, France
19. Service de Neurologie Pédiatrique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
20. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
21. Centre de Génétique, Centre de Référence Maladies Rares<sup>®</sup> Anomalies du Développement et Syndromes malformatifs<sup>®</sup>, CHU Dijon, EA 4271 GAD Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France

**Auteur correspondant :** Schluth-Bolard Caroline (caroline.schluth@yahoo.fr)

L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) est à présent couramment utilisée dans l'exploration des patients atteints de déficience intellectuelle et / ou syndrome malformatif. Cependant, cette méthode d'analyse globale du génome à haute résolution peut parfois mettre en évidence des déséquilibres génomiques qui ne sont pas en rapport avec l'indication initiale. C'est par exemple le cas de la microdélétion de la région 17p12 emportant le gène PMP22. Cette délétion est responsable de la neuropathie héréditaire avec hypersensibilité à la pression (HNPP), qui se manifeste le plus souvent à l'âge adulte par des épisodes de paralysie et de paresthésies dans un territoire nerveux suite à un traumatisme ou à une compression prolongée de la région.

Dans une étude collaborative rétrospective réunissant 9 centres du réseau français Achropuce, nous avons identifiés 20 patients porteurs d'une délétion 17p12 parmi 20298 ACPA réalisées entre 2007 et 2013, soit 0,098%.

Ces patients, 17 de sexe masculin et 3 de sexe féminin, comprenaient 2 cas prénataux et 18 cas post-nataux, âgés de 10 mois à 68 ans (moyenne : 12,7 ans). Ils étaient adressés pour les indications suivantes : déficience intellectuelle (12/20), anomalies neurologiques

(4/20), malformations (3/20) et étude familiale (1/20). Deux patients présentaient des signes de HNPP, déjà connus avant l'ACPA, et un autre patient a manifesté des symptômes un an après l'analyse. Dans 12 cas, l'étude parentale a été réalisée et a montré dans tous les cas que cette délétion était héritée d'un des parents.

Ainsi, la fréquence de la délétion 17p12 observée dans cette série est d'environ 1/1000, alors que la fréquence de HNPP est estimée à 5/100000. Outre les problèmes liés à l'annonce non sollicitée de la pathologie, nous discuterons de cette discordance et des explications possibles.

**Mots-clefs :** délétion 17p12, HNPP, PMP22

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A061/#202

### Les mécanismes moléculaires du retard de croissance dans la délétion 18p: à propos d'un cas familial

MOLKA KAMMOUN (1), Hanène HANNACHI (1), Sameh KHAMMARI (2), Sarra DIMASSI (1), Wafa DAHLEB (1), Hatem ELGHZEL (1), Ali SAAD (1), Soumaya MOUGOU-ZERELLI (1)

1. service de cytogénétique, biologie moléculaire et biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie  
2. Service de Pédiatrie, CHU Ibn El JAZZAR, Kairouan, Tunisie

**Auteur correspondant :** KAMMOUN Molka (kammoun\_molka@yahoo.fr)

Etant compatible avec la vie, la délétion 18p est une des anomalies chromosomiques les plus fréquemment rencontrées. Son phénotype est variable et inclut entre autres un retard de croissance avec un déficit en hormone de croissance. Une holoprosencéphalie peut être présente dans 10 à 20% des cas.

Nous rapportons le cas d'une délétion 18p11 interstitielle familiale emportant le gène TGIF, découverte en premier chez un patient âgé de 9 ans, qui consulte pour une dysmorphie faciale, un retard de croissance post natal et un retard mental sévère, une microcéphalie, un micropénis et une ectopie testiculaire bilatérale. Le bilan hormonal a objectivé un pan-hypopituitarisme avec à l'IRM hypophysaire, un syndrome d'interruption de la tige pituitaire (SITP). Cette délétion s'est avérée transmise par le père qui présente un retard mental et une dysmorphie avec une taille normale.

Le gène TGIF code pour un facteur inhibiteur de la transcription et est l'un des gènes responsables de l'holoprosencéphalie (HPE), une affection de grande hétérogénéité génétique et clinique allant d'une HPE alobaire avec cyclopie, à de discrètes anomalies faciales. Le SITP semble appartenir à ce large spectre. Il est vraisemblable que le gène TGIF soit indirectement impliqué dans le développement hypophysaire en inhibant l'expression du gène SOX3 situé en Xq27, facteur de transcription impliqué dans le développement gonadique et cérébral à la fois. En effet, L'hyper-expression de SOX3 a récemment été incriminée dans la perturbation des voies de signalisation nécessaire au développement pituitaire et à la cognition. Cette hypothèse est appuyée par l'association dans les cas de duplications Xq27 incluant le gène SOX3 de retard mental et de déficit somatotrope avec SITP. D'une manière intéressante, aucun des cas de délétion 18p familiale précédemment rapportés n'est transmis par le père. Les hommes porteurs de délétion 18p sont donc fertiles. Curieusement, la taille du père est normale malgré la délétion du gène TGIF. Ceci pourrait s'expliquer par une pénétrance incomplète du gène TGIF à effet dominant, ou encore par l'effet de gènes modificateurs qui influencent le phénotype engendré par la délétion TGIF.

Le retard de croissance dans la délétion 18p semble résulter de la délétion du gène TGIF qui est indirectement impliqué dans le développement hypophysaire.

**Mots-clés :** délétion 18p, syndrome d'interruption de la tige pituitaire, retard de croissance

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A062/#203

### Des délétions de 1 Mb en amont de SOX9 responsables de malformations cardiaques congénitales dans deux familles

Marta Sanchez-Castro (1,2), Christopher T. Gordon (3,4), Florence Petit (5), Alex S. Nord (6,7), Patrick Callier (8), Joris Andrieux (9), Patrice Guérin (1,2), Olivier Pichon (10), Albert David (10), Véronique Abadie (11,12), Damien Bonnet (13), Axel Visel (6,7), Len A. Pennacchio (6,7), Jeanne Amiel (3,4,12,14), Stanislas Lyonnet (3,4,12), Cédric Le Caignec (1,2,10)

1. INSERM, UMR1087, l'institut du thorax, Nantes, France  
2. Université de Nantes, Nantes, France  
3. INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France.  
4. Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France.  
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, France  
6. Genomics Division, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, California, USA  
7. U.S. Department of Energy, Joint Genome Institute, Walnut Creek, California, USA  
8. Département de Génétique, Hôpital Le Bocage, Dijon, France  
9. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, France  
10. CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France  
11. Service de Pédiatrie Générale, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France  
12. CRM National Reference Centre for Pierre Robin Syndromes and Sucking and Swallowing Congenital Disorders, Paris, France  
13. Centre de Référence Malformations Cardiaques Congénitales Complexes – M3C, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France  
14. AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Sanchez-Castro Marta (marta.sancas@gmail.com)

SOX9 est un facteur de transcription qui s'exprime dans une grande variété de tissus, dont les cellules de la crête neurale cardiaque et les bourgeons endocardiques. Des mutations hétérozygotes perte de fonction de la séquence codante du gène SOX9 sont responsables de Dysplasie Campomélique (CD), une dysplasie squelettique rare se caractérisant par un raccourcissement et une courbure congénitale des os longs (campomelia), des omoplates hypoplasiques, des malformations vertébrales, des pieds bots, une séquence de Pierre Robin (PRS), une dysmorphie faciale et des anomalies du développement sexuel (DSD). Des variations du nombre de copies (CNV) en amont de SOX9 suspectées d'interrompre des éléments régulateurs spécifiques de certains tissus ont été détectées chez des patients atteints de PRS isolé et chez des patients présentant un DSD isolé. Nous rapportons deux familles comprenant des patients présentant un PRS isolé, des malformations cardiaques congénitales (CHD) isolées ou l'association des deux anomalies. Les patients atteints des deux familles sont porteurs d'une délétion similaire d'environ 1 Mb en amont de SOX9. Les analyses de ChIP-Seq réalisées à partir de tissu cardiaque de souris pour H3K27ac, un marqueur des éléments régulateurs actifs, ont permis l'identification de plusieurs enhanceurs cardiaques putatifs au sein de la région délétée. Un de ces éléments régulateur est connu pour interagir avec Nkx2.5 et Gata4, deux facteurs de transcription responsables de CHDs. En conclusion, ces données suggèrent que la dérégulation d'enhanceurs cardiaques localisés en amont de SOX9 peut être responsable de CHD chez l'homme.

**Mots-clés :** Malformation Cardiaque Congénitale (CHD), SOX9, Variation du nombre de copies (CNV)



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A063/#214

### Troubles de la gamétogenèse et de la procréation associés à des translocations chromosomiques équilibrées : modulation du conseil génétique. A propos de 20 cas

Nourhene Gharbi (1), Ikhlal Ben Ayed (1), Fatma Abdelhédi (2), Rim Keskes (3), Leila Keskes (3), Hassen Kammoun (2), Neila Belghith (2)

1. Service de génétique médicale, CHU Hédi Chaker - Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de génétique médicale - Laboratoire de génétique moléculaire humaine, CHU Hédi Chaker - Faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie.
3. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Gharbi Nourhene (nourhene.gharbi@yahoo.fr)

#### Introduction

Les translocations chromosomiques robertsoniennes ou réciproques sont des anomalies de structure assez fréquentes chez les couples consultant pour trouble de la reproduction. Elles représentent 1/1000 naissances pour les translocations robertsoniennes et 1/500 naissances pour les translocations réciproques.

#### Objectif

Notre objectif est d'analyser, à partir des cas étudiés de réarrangements chromosomiques, les différents types de gamètes engendrés et d'expliquer leur impact sur la procréation afin de donner le conseil génétique adéquat à ces patients et leurs familles.

#### Patients et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective concernant 20 patients porteurs de translocations chromosomiques équilibrées. Cette étude a intéressé une période s'étalant du mois de janvier 2005 au mois de mois d'octobre 2013.

L'étude cytogénétique a été réalisée soit pour chercher une anomalie, chromosomique pouvant expliquer un retard mental avec syndrome dysmorphique ou un trouble de la procréation, soit dans le cadre d'un conseil génétique familial.

#### Résultats

L'analyse cytogénétique de ces patients a révélé la présence de huit translocations réciproques équilibrées et douze translocations robertsoniennes équilibrées. Ces translocations étaient responsables de 6 cas d'infertilité masculine et 14 cas de fausses couches multiples et/ou de naissances malformées.

#### Discussion

Les porteurs de translocation robertsoniennes ou réciproque ont habituellement un phénotype normal. Cependant, lors de la ségrégation méiotique des translocations robertsoniennes et des translocations réciproques seuls les 2 gamètes résultant d'une ségrégation alterne, qui est la plus fréquente, sont équilibrés.

Il existe lors de la ségrégation méiotique des translocations robertsoniennes un risque de formation de gamètes déséquilibrés donnant des zygotes trisomiques ou monosomiques pour la totalité d'un chromosome, ils sont responsables de la majorité des formes familiales de trisomie 21 et 13.

Lors de la ségrégation méiotique et des translocations réciproques, Les gamètes déséquilibrés sont responsables de la formation de Zygotes déséquilibrés pourvoyeurs de fausses couches et de naissances malformées.

Ainsi, les translocations équilibrées peuvent être responsable d'infertilité masculine, d'avortement répétés et de naissances malformées. Le risque reproductif dépend de l'importance du déséquilibre génétique ainsi que du nombre des points de cassure des chromosomes impliqués.

#### Conclusion

L'analyse de la ségrégation méiotique de chaque translocation a permis de comprendre la physiopathologie du trouble de la reproduction et de développer le conseil génétique adéquat pour les patients et leurs familles. **Mots-clés :** Translocation Robertsonienne, Translocation réciproque, Fausses couches et infertilité

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A064/#251

### Un nouveau cas de délétion du gène KDM6A chez une patiente présentant un phénotype atténué de syndrome de Kabuki

Yoann Vial (1), Valérie Drouin Garraud (2), Pascale Saugier Veber (3), Pascal Chambon (1), Thierry Frébourg (3), Nathalie Le Meur (4)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen, Rouen, France
2. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
3. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale, Université de Rouen, Rouen, France
4. Laboratoire de Cytogénétique, EFS-Normandie, Bois Guillaume, France

**Auteur correspondant :** Le Meur Nathalie (nathalie.lemeur@efs.sante.fr)

Nous rapportons l'observation d'une jeune femme de 19 ans présentant une déficience intellectuelle syndromique et une délétion (X)(p11.3) identifiée par CGH-Array. J. est née au terme d'une grossesse sans particularité eutrophe et présentait une artère ombilicale unique et une luxation bilatérale de hanche. Elle a développé un retard moteur (marche acquise à 18 mois) et du langage et a présenté des difficultés d'apprentissage qui ont motivé la scolarisation en IME à l'âge de 8 ans et des troubles du comportement à type d'anxiété. L'examen clinique a objectivé un retard de croissance statural avec une taille à -3DS et une dysmorphie faciale : philtrum court, bouche aux coins tombants, oreilles en rotation postérieure, associée à une clinodactylie des 2ème et 5ème doigts bilatérale. La voix de cette patiente est très aiguë. Le caryotype standard n'a pas révélé d'anomalie chromosomique. La CGH-Array, réalisée avec des lames 180K, a mis en évidence une délétion de la région Xq11.3 s'étendant sur 161 kb et emportant le gène DUSP21 et le premier exon de KDM6A. L'étude parentale a révélé que ce remaniement est survenu de novo. Des mutations du gène KDM6A ont été décrites en 2012 chez des patients présentant un syndrome de Kabuki sans altération du gène MLL2. Il code pour une histone déméthylase qui interagit avec MLL2 et joue un rôle au cours du développement embryonnaire. A ce jour, seuls 7 patients présentant une altération de KDM6A (3 avec délétion, 3 avec mutation ponctuelle et un avec interruption de KDM6A en relation avec une translocation) ont été rapportés. Bien que le gène soit situé sur le chromosome X, le phénotype décrit chez les garçons ne semble pas plus sévère. Ceci pourrait être lié au fait que KDM6A échappe à l'inactivation de l'X et qu'il existe un gène paralogue sur le chromosome Y (UTY) pouvant jouer un rôle de compensation chez le garçon. La description des éléments cliniques caractéristiques de ce huitième cas d'altération de KDM6A et la comparaison aux autres cas publiés illustrent la variabilité clinique du phénotype associé aux altérations de KDM6A qui peuvent être responsable de formes modérées de syndrome de Kabuki.

**Mots-clés :** KDM6, Syndrome de Kabuki, CGH array

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A065/#253

### Duplication 1q43 pure entraînant une rupture du gène RYR2 chez un patient autiste

Manal DAYEM-QUERE (1), Fabienne GIULIANO (1), Christophe MASSOL (1), Nathalie RABASSE (2), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (1), Houde KARMOUS-BENAILLY (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet II, CHU de Nice, Nice, France

2. CAMSP Antibes, Hôpital d'Antibes, Antibes, France

**Auteur correspondant :** DAYEM-QUERE Manal (quere.m@chu-nice.fr)

De nombreux cas de délétions concernant la région 1q43 du bras long du chromosome 1 ont été rapportés dans la littérature, et, très récemment, une délétion emportant uniquement le gène CHRM3 a été décrite chez un patient présentant des troubles autistiques. En comparaison, moins d'une dizaine de cas de duplication 1q43 ont été publiés, et tous, à une exception près, sont associés à une monosomie impliquant un autre chromosome. Les phénotypes sont variables, probablement en raison de la présence d'une seconde anomalie. La seule étude présentant une duplication sans autre anomalie associée décrit une duplication 1q43 et une translocation de la région terminale de l'autre chromosome 1 sur le dérivé 1, résultant en un phénotype de macrocéphalie avec un faciès caractéristique, un retard de développement, et des anomalies cardiaques.

Nous présentons l'étude d'un jeune patient sans dysmorphie apparente et présentant un retard de développement ainsi que des troubles du spectre autistique, porteur d'une duplication 1q43 pure de 615 kb environ, découverte en ACPA, sans autre anomalie associée. Cette duplication implique uniquement la région terminale du gène RYR2, ainsi que la totalité du gène ZP4, mais n'englobe pas le gène CHRM3.

**Mots-clefs :** autisme, duplication 1q43 pure, RYR2

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A066/#260

### L'implication des réarrangements cryptiques subtélomériques dans la récurrence des fausses couches

Amani Hajlaoui, Ines Zidi, Samira IbalRomdhane, Molka Kammoun, Sonia Braham, Mounir Ajina, Ali Saad, Somaya Mougou-Zerelli  
Laboratoire de Cytogénétique, Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, Hôpital Farhat-Hached, Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant :** Hajlaoui Amani (hajlaoui\_amani@yahoo.com)

L'avortement spontané à répétition (ASR) touche 2 à 5% des couples désirant une grossesse. Les étiologies sont hétérogènes comprenant des causes environnementales, chromosomiques et géniques. Les anomalies chromosomiques représentent la cause la plus fréquente des ASR avec près de 70% d'anomalies chromosomiques trouvées dans les produits d'avortement. Depuis l'avènement de l'hybridation in situ fluorescente (FISH) le spectre de détection des remaniements chromosomiques cryptiques constitutionnels s'est élargi. S'agissant surtout d'anomalies équilibrées, nous nous sommes intéressés dans les cas où le caryotype est normal à tester si les ASR pouvaient être le résultat de translocations cryptiques subtélomériques touchant les parents.

Nous avons recensé au sein du laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction du C.H.U Farhat Hached Sousse du 01/07/ 2011 au 30/04/ 2012, 101 couples se présentant avec une histoire de deux ASR ou plus et où aucune cause extra-génétique n'a été identifiée. En premier temps, un caryotype sur lymphocytes a été effectué pour tous les cas. En second temps, nous avons sélectionné 20 couples pour une exploration des télomères par la technique (FISH).

L'analyse par caryotype a révélé 4 translocations réciproques et une robertsonienne. L'incidence des aberrations est de l'ordre 4.95% dont les 3/5 étaient de sexe féminin. La FISH avec les sondes subtélomériques n'a révélé aucun réarrangement cryptique subtélomérique. En revanche chez un couple se présentant avec une histoire familiale de malformations fœtales et de naissance vivante normale, une translocation avec des points de cassures distaux pré-télomériques a été identifiée entre les bras courts des chromosomes 3 et 7. Cette anomalie a été suspectée par le caryotype et confirmée par FISH télomérique.

En effet, les translocations prédisposent à une malségrégation des chromosomes au cours de la gamétogenèse. Une étude pilote suggère qu'en fonction des indications, la proportion de gamètes aneuploïdes est différente. En effet, pour les patientes porteuses d'une translocation réciproque, chez qui la translocation a été découverte de façon fortuite, le risque d'aneuploïdie est faible à modéré. À l'inverse, les patientes chez qui la translocation a été diagnostiquée suite à ASR ou des interruptions médicales de grossesses pour déséquilibre chromosomique ou encore la naissance d'un enfant ayant un déséquilibre chromosomique, le risque est majeur, avec une proportion très importante d'ovocytes aneuploïdes.

Nous pourrions donc conclure que les translocations subtélomériques pourraient comme même être à l'origine des ASR, surtout lorsqu'il existe des antécédents d'enfants vivants/malformés. Cette étude nous permet d'orienter les indications de l'étude de tous les télomères dans le cadre des ASR en cas d'une histoire fortement évocatrice avec un caryotype normal et non à toute la population des couples avec des ASR.

**Mots-clefs :** avortements spontanés à répétition, réarrangements télomériques, translocations

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A067/#261

### L'impact des facteurs masculins dans la survenue des avortements spontanés à répétition

Ines Zidi, Amani Hajlaoui, Sonia Braham, Imen Meniaoui, Houda Ghédir, Mounir Ajina, Ali Saad, Samira IbalRomdhane, Somaya Mougou-Zerelli  
Laboratoire de Cytogénétique, Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, Hôpital Farhat-Hached Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant :** Zidi Jrah Ines (hajlaoui\_amani@yahoo.com)

Le taux de pertes fœtales est très important dans notre espèce avec une cause majoritairement chromosomique impliquant à la fois le partenaire male et femelle. Si les facteurs féminins ont été largement évoqués, en revanche, les facteurs masculins le sont rarement. Pour ceci, l'objectif de notre étude était d'évaluer le rôle des anomalies des paramètres du spermogramme, de la fragmentation de l'ADN nucléaire et des aneuploïdies chromosomiques spermatiques chez des hommes dont les partenaires avaient des antécédents d'avortement spontané à répétition (ASR).

Nous avons recensé au sein du laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction du C.H.U Farhat Hached Sousse 20 hommes dont leurs partenaires présentaient une histoire d'ASR. En premier temps, un caryotype a été réalisé chez les couples afin d'éliminer toute anomalie chromosomique constitutionnelle. En parallèle, et comme faisant partie intégrante de la constitution du futur embryon, une analyse de l'intégrité de l'ADN spermatique et une recherche de l'aneuploïdie gonosomique des spermatozoïdes ont été pratiquées et comparées à un groupe de témoins. Un nombre de 2000 noyaux par lame a été fait.

La comparaison des paramètres spermatiques chez les hommes appartenant à ces couples a révélé une baisse de la mobilité ainsi qu'une augmentation du taux des spermatozoïdes de forme atypique d'une façon significative par rapport au groupe témoin. L'index moyen de fragmentation de l'ADN spermatique était de  $15.7 \pm 10.8$  versus  $10,25 \pm 3.8$  chez les témoins. Par la technique FISH nous avons démontré que le taux global d'aneuploïdie chromosomique était significativement plus élevé chez les patients avec une histoire d'ASR par rapport au groupe témoin (p

Nous pourrions donc conclure que l'analyse cytogénétique des spermatozoïdes contribuerait largement à une meilleure compréhension des mécanismes et de l'étiologie des ASR ainsi qu'à une meilleure prise en charge dans le cadre de la procréation médicalement assistée.

**Mots-clefs :** avortements spontanés à répétition, fragmentation d'ADN, aneuploïdies

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A068/#284

### Anomalies du corps calleux et la région 1q43-q44 : Une nouvelle région critique?

Dahleb Wafa (1), Kammoun Molka (1), Dimassi Sarra (1), Ben Rhouma Hanène (2), Hannachi Hanen (1), Rouissi Aida (2), Saad Ali (1), Mougou-Zerelli Soumaya (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaine, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie  
2. Service de Neurologie, Institut de Neurologie, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Dahleb Wafa (wafa.dahleb@hotmail.fr)

Le syndrome délétionnel 1q43-q44 est souvent caractérisé par de multiples anomalies et des signes neurologiques, principalement, une microcéphalie, des anomalies du corps calleux, une épilepsie, une dysmorphie faciale caractéristique et un retard de développement psychomoteur. Face à cette variabilité phénotypique et le nombre important des gènes dans cette région, la corrélation génotype-phénotype a toujours été un défi. En particulier, délimiter une région critique pour les anomalies du corps calleux s'est montré difficile à établir. Cependant, des données récentes de littérature ont rapporté une région critique d'au moins de 2Mb comprenant les gènes AKT3, ZNF238 et HNRNPU en tant que gènes candidats pour la microcéphalie, les anomalies du corps calleux (ACC) et l'épilepsie respectivement. Dans cette étude, nous rapportons deux cas avec le tableau clinique typique du syndrome délétionnel 1q et qui partagent une délétion interstitielle commune de 2.7 Mb, au-delà de la région critique rapportée. La technique d'hybridation génomique sur puces à ADN a montré une délétion de 11.7 Mb (arr. 1q43-q44 (235, 500, 506-247,179,291)X1) pour le premier patient et une plus petite délétion de 2.7 Mb (arr. 1q43(240,354,387-243,090,301)X1) pour le deuxième cas. Tous les deux présentent des anomalies du corps calleux et partagent la plus petite délétion chevauchante. Dans cette nouvelle région, trois gènes semblent être d'un intérêt particulier : FMN2, PLD5 et RGS7. FMN2 code pour l'organisation du cytosquelette et l'établissement de la polarité cellulaire, PLD5 est une phospholipase D intervenant dans la régulation cytosquelettique et la régulation transcriptionnelle et RGS7 est impliquée dans régulation du signal de la protéine G et dans la régulation rapide de l'excitabilité neuronale. Ces données semblent exclure la participation de la région critique rapportée précédemment, du moins, impliquent FMN2 et PLD5 comme autres gènes candidats responsables d'ACC chez les patients avec une délétion 1q terminale. Etant donné la présence de certains patients présentant une ACC et des délétions objectivées en dehors de cet intervalle proposé, nous supposons que d'autres mécanismes, comme l'expressivité variable ou l'effet positionnel de gènes voisins avec des régions régulatrices distantes seraient aussi impliqués.

**Mots-clefs :** Anomalies du corps calleux, délétion 1q43-q44, FMN2, PLD5

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A069/#288

### Les récurrences d'aneuploïdies : quelle fréquence ? Quelles prises en charge ? Quelles hypothèses ?

Liliane ALLARD (1), Denise MOLINA GOMES (1), Cécile OHEIX (1), Thibaud QUIBEL (2), Joelle ROUME (1), Brigitte SIMON BOUY (3), François VIALARD (1)  
1. Unités de Génétique médicale et Cytogénétique, CHI Poissy/Saint Germain en Laye, POISSY, France  
2. Unité de gynécologie-obstétrique, CHI Poissy/Saint Germain en Laye, POISSY, France  
3. Unité de génétique constitutionnelle, Centre hospitalier de Versailles, LE CHESNAY, France

**Auteur correspondant :** OHEIX Cécile (cecile.oheix.cg@gmail.com)

**Introduction :** Cette étude propose une nouvelle ré-évaluation du risque de récurrence des aneuploïdies en prénatal, d'une part dans le but d'améliorer le conseil génétique des couples ayant eu un antécédent d'aneuploïdie fœtale au cours d'une précédente grossesse, et d'autre part, d'apprécier les différentes prises en charge proposées par la suite. Enfin, cette ré-évaluation cherche à mettre en évidence une/ou des éventuelles étiologies à ces récurrences lors de grossesses successives.

**Méthodes :** Nous avons utilisé dans cette étude les données issues de l'Agence de la BioMédecine dans le domaine du diagnostic prénatal et les avons comparées aux données recueillies au CPDPN de Poissy. Puis, nous avons évalué le risque gamétique à partir des données de diagnostic pré-implantatoire (DPI) collectées par l'ESHRE et du diagnostic pré-conceptionnel (DPC) de l'hôpital de Poissy.

**Résultats et Discussions :** Pour les couples ayant un antécédent de caryotype fœtal anormal, le taux de récurrence d'aneuploïdie identifiée à partir de données de l'Agence de la biomédecine et de celles de Poissy est similaire, et de l'ordre de 2.1%. 15 patientes de Poissy sur les 722 patientes avec une grossesse aneuploïde ont présenté au moins deux grossesses consécutives avec un fœtus aneuploïde.

Les prises en charge proposées pour les patientes à récurrence sont: la tentative de grossesse spontanée avec ou sans diagnostic anténatal, le DPI, le DPC, le don d'ovocytes. Les études réalisées au cours des prises en charge en DPI (ESHRE) et en DPC (hôpital de Poissy) montrent qu'il existe une prédisposition très importante chez ces patientes à avoir des ovocytes aneuploïdes. Les enfants bien portants des patientes récidivantes du CPDPN de Poissy sont nés de grossesses spontanées avec ou sans DPN, de grossesse obtenue à l'aide d'un don d'ovocyte ou à la suite d'un DPI.

Les hypothèses de ces récurrences sont le hasard, l'âge maternel et/ou vieillissement ovocytaire précoce, une mosaïque germinale expliquant la récurrence d'une même trisomie (homotrisomie), une prédisposition, notamment pour les patientes jeunes et concernées pour une récurrence impliquant différentes trisomies (hétérotrisomies).

**Conclusion :** Au total, nous proposons de modifier l'information concernant le risque de récurrence d'aneuploïdie donnée aux patientes à la suite d'un premier antécédent, en annonçant un risque de 2% au lieu de 1%, dans la mesure où certaines de ces patientes présentent un risque accru de récurrence, et de tenir compte des antécédents de fausses couches.

Pour les patientes concernées par deux antécédents, une prise en charge particulière (DPN, DPC, DPI, don d'ovocytes) est discutée et proposée selon le parcours et le souhait des couples. Le don d'ovocyte semble être une bonne solution pour pallier la mauvaise qualité ovocytaire de ces patientes.

**Mots-clefs :** risque de récurrence, trisomies, conseil génétique

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A070/#293

### Syndrome ATR-16: forme familiale associée à un remaniement chromosomique avec un caryotype à 45 chromosomes.

Radu HARBUZ (1), Frédéric BILAN (1), Dominique COUET (1), Barbara MANIERE (1), Alain KITZIS (1), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (2)  
1. Service de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France  
2. Service de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement Ouest, CHU de Poitiers, Poitiers, France

**Auteur correspondant :** HARBUZ Radu (harbuzradu@yahoo.com)

Les monosomies par ségrégation tertiaire 3:1 avec la perte d'un chromosome dérivé sont rares. Nous rapportons un cas familial avec deux sœurs âgées de 15 et 10 ans atteintes d'un syndrome ATR-16 dû à la ségrégation de type 3 :1 d'une translocation réciproque maternelle entre les chromosomes 16 et 22. Les 2 sœurs présentent une déficience intellectuelle légère associée à des troubles du comportement de type inhibition et lenteur idéo-motrice, un retard de croissance, une microcéphalie (PC à -2DS chez l'une et -3 DS chez l'autre) et une microcytose. L'aînée présente en plus une hyperlaxité, une scoliose et une épilepsie que ne présentent pas la plus jeune. L'ACPA, réalisée en première intention, montre une délétion de 1,3 Mb en 16p13.3 et une délétion de 572 Kb en 22q11.1. L'examen en cytogénétique conventionnelle révèle un caryotype déséquilibré à 45 chromosomes. Leur mère, de phénotype normal, présente un réarrangement chromosomique équilibré de type translocation réciproque entre l'extrémité du bras court d'un chromosome 16 et la région péri-centromérique du bras long d'un chromosome 22 ; son caryotype est : 46,XX,t(16;22)(p13.3;q11.1).ish t(16;22)(RP11-66F9+;RP11-243K18+).

Les deux filles ont un caryotype déséquilibré avec un chromosome der16 et la perte du chromosome der22 : 45,XX,der(16)t(16;22)(p13.3;q11.1),-22mat.ish der(16)t(16;22)(p13.3;q11.1)(22qter+, RP11-243K18-,D16Z2+).arr[hg18] 16p13.3(0-1,344,062)x1,22q11.1(15,451,232-16,023,989)x1.

Une translocation réciproque avec un des deux chromosomes dérivés de très petite taille a comme risque un déséquilibre par ségrégation de type tertiaire 3:1 [1]. Comme dans la majorité des cas de syndrome ATR-16, il existe une deuxième anomalie chromosomique associée (del 22q11.1), ce qui rend difficile la corrélation génotype/phénotype. La délétion en 16p13.3 affecte quelques dizaines de gènes, parmi lesquels les gènes HBA1 et HBA2 dont l'haploinsuffisance est responsable de la microcytose et le gène SOX8 probablement responsable de la déficience intellectuelle [2]. La délétion en 22q11.1 n'affecte pas la région critique du syndrome de DiGeorge et est très probablement peu délétère par rapport à la région 16p13.3. Ce cas montre la complémentarité de 2 outils d'analyse chromosomique (ACPA et cytogénétique conventionnelle) pour le diagnostic et pour un conseil génétique approprié dans un cas familial de remaniement chromosomique avec ségrégation tertiaire 3:1.

1- McKinlay Gardner RJ, Sutherland GR, Shaffer LG. Chromosome abnormalities and genetic counselling (Oxford Monographs on Medical Genetics) fourth edition 2012.

2- Gibson WT, Harvard C, Qiao Y, Somerville MJ, Lewis ME, Rajcan-Separovic E. Phenotype-genotype characterization of alpha-thalassemia mental retardation syndrome due to isolated monosomy of 16p13.3. Am J Med Genet A. 2008 Jan 15;146A(2):225-32.

**Mots-clefs :** syndrome ATR-16, ségrégation 3:1, monosomie



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A071/#305

### Syndromes neurocomportementaux à fort déterminisme génétique : la monosomie distale 10q, un nouveau modèle d'ADHD ?

Julie PLAISANCIE (1), Laurence BOUNEAU (2), Claude CANCES (3), Jacques BENESTEAU (3), Christelle GARNIER (1), Georges BOURROUILLOU (2), Samantha LEONARD (1), Patrick CALVAS (1), Adeline VIGOUROUX (2), Sophie JULIA (1), Eric BIETH (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. Cytogénétique, Hôpital Purpan, Toulouse, France
3. Neuropédiatrie, Hôpital des Enfants, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** BIETH Eric (bieth.e@chu-toulouse.fr)

Dans nombre de syndromes microdélétionnels connus tels que les syndromes de Smith-Magenis, de Williams-Beuren ou encore de Di-Georges, les manifestations neurocomportementales sont caractéristiques et elles constituent un des critères diagnostiques majeurs. Les monosomies distales impliquant le bras long du chromosome 10 sont des anomalies rares et hétérogènes, la localisation et la taille des délétions del(10)(q26) étant variables. Si l'atteinte cognitive que présente les patients atteints est de sévérité variable, en revanche la majorité d'entre eux partagent des signes craniofaciaux caractéristiques et surtout un profil comportemental spécifique. Récemment, une région minimale critique, baptisée SRO, correspondant à la plus petite zone de chevauchement des délétions (d'environ 600 Kb) a été proposée. Nous décrivons ici quatre patients porteurs d'une délétion distale de la région 10q, présentant entre autres des troubles de l'attention et une hyperactivité (ADHD). L'un d'entre eux présentait un profil neurocomportemental particulièrement marqué alors que ses fonctions neurocognitives étaient relativement préservées. De façon intéressante, la SRO n'était pas incluse dans l'intervalle délété de ce patient, suggérant que la délétion identifiée affecterait des gènes plus particulièrement impliqués dans le contrôle des fonctions neurocomportementales. L'un de ces gènes candidats est le gène CALY, dont le rôle dans le déterminisme de l'ADHD a déjà été suspecté par des études d'association et dont on sait que le niveau d'expression est corrélé aux troubles du comportement dans divers modèles animaux. L'haploinsuffisance du gène CALY pourrait ainsi être le facteur génétique majeur du profil comportemental des patients atteints d'une monosomie distale 10q. Enfin, ces données peuvent contribuer à faire de ce syndrome microdélétionnel rare un modèle d'étude de l'ADHD.

**Mots-clefs :** ADHD, CALY, del(10)(q26)

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A072/#306

### Impact des polymorphismes du nombre de copies de régions chromosomiques (CNP) sur l'implantation embryonnaire chez des patients prises en charge en AMP

Radia Boudjenah (1), Esther Dos Santos (2), Samuel Quentin (3), Steven Gazal (4), Didier Goidin (5), Valérie Serazin (2), Delphine Fauvert (2), Florence Boitrelle (2), Denise Molina Gomes (2), Antoine Torre (2), Etienne Rouleau (6), Robert Wainer (2), Jean Soulier (7), Jacqueline Selva (2), François Vialard (2)

1. Département de biologie de la reproduction, cytogénétique, génétique et gynécologie et obstétrique, CHI Poissy Saint Germain, Poissy, France
2. Département de biologie de la reproduction, cytogénétique, génétique et gynécologie et obstétrique, CHI Poissy St Germain, Poissy, France
3. Service d'hématologie, Hôpital St Louis, Paris, France
4. UMR 738, Hôpital Bichat, Paris, France
5. Développement, Agilent, Les Ulis, France
6. Oncogénétique, Institut Curie, Paris, France
7. Service d'Hématologie, Hôpital St Louis, Paris, France

**Auteur correspondant :** Vialard François (fvialard@hotmail.com)

#### Introduction

L'implantation embryonnaire est un événement multifactoriel qui repose sur un dialogue entre l'embryon et l'endomètre utérin, avec de très nombreux gènes impliqués dans son contrôle tels que les cytokines, les hormones ou les facteurs de croissance. Comme tous les processus multifactoriels, l'implantation embryonnaire est potentiellement soumise aux phénomènes de prédisposition génétique. L'étude des polymorphismes de ses gènes (SNP pour single nucleotide polymorphism), entraînant une variation d'expression protéique, a permis d'identifier un certain nombre de marqueurs génétiques prédictifs de l'implantation embryonnaire comme le polymorphisme du Tumor necrosis factor (TNF $\alpha$ -308A/G), Vascular endothelial growth factor (VEGF+405G/C), Tumor suppressor protein 53 (p53Arg72Pro), Plasminogen activator Inhibitor (PAI 4G/5G). Cependant, ces polymorphismes n'expliquent qu'une faible partie de la composante génétique de l'implantation embryonnaire, ce qui confirme que d'autres variants sont encore à identifier.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'étude de CNP de taille supérieure à 1 kb, afin d'identifier de nouveaux gènes pouvant influencer l'implantation embryonnaire.

#### Matériel et méthodes

Nous avons utilisé une puce Agilent 1M (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) spécifiquement désignée sur les CNP. Pour cette étude princeps, 40 patientes ont été incluses, 20 patientes contrôles avec des grossesses gémellaires obtenues à la 1ère tentative de FIV-ICSI et 20 patientes n'ayant pas eu de grossesses après au moins un transfert de 10 embryons (EI). La différence dans la fréquence de distribution des CNP dans les deux populations a été comparée en utilisant les programmes d'analyse Workbench et Partek.

#### Résultats

Chez les 40 patientes analysées, 9913 CNPs (Amplification/ délétion), de taille allant de 35-kb à 17-Mb, ont été observés. En moyenne, 259 $\pm$ 131 CNPs par patiente ont été identifiés, avec respectivement dans le groupe EI et contrôle des valeurs à 246 $\pm$ 110 et 273 $\pm$ 150. Seuls les CNPs présents chez au moins quatre patients ou plus ont été sélectionnés pour l'analyse ultérieure.

Sur ces 1289 CNPs candidats, 56 présentent une différence significative

#### Discussion

En plus des nombreux polymorphismes nucléotidiques à effet modeste, cette étude montre pour la première fois que des CNP pourraient avoir un impact sur l'implantation embryonnaire.

Afin de confirmer ces résultats, une PCR en temps réel va être utilisée sur des biopsies d'endomètre de patientes avec échec d'implantation ou contrôles. Les résultats sont en cours.

**Mots-clefs :** Implantation embryonnaire, CNP, AMP

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A073/#307

### La duplication 3q13.31 : un nouveau syndrome miroir de la délétion 3q13.31 ?

Delphine Fauvert (1), Denise Molina Gomes (1), Estelle Coudert (1), Marie Delcroix (1), Didier Goidin (2), Cécile Oheix (1), François Vialard (1), Joelle Roume (1)

1. Département de biologie de la reproduction, cytogénétique, génétique et gynécologie et obstétrique, CHI Poissy St Germain, Poissy, France  
2. Développement, Agilent, Les Ulis, France

**Auteur correspondant :** Vialard François (fvialard@hotmail.com)

La délétion 3q13.31, est un nouveau syndrome microdélétionnel, décrit en 2012 par Molin et al. Il est caractérisé par un retard de développement, un excès de croissance, des anomalies génitales masculines et une dysmorphie faciale associant un philtrum court, des lèvres inférieures antéversées et charnues, des fentes palpébrales antimongoloïdes, un hypertélorisme et un palais ogival. Sur les 29 cas rapportés, une région critique de 0,6Mb avait été identifiée, et une région délétée de façon récurrente de 2.76Mb chez 5 individus. Très récemment, la duplication en miroir a été décrite par Vuillaume et al. Nous rapportons ici le second cas familial de cette duplication en miroir de 2.7Mb

Il s'agit d'une enfant de 10 ans, adressée dans notre centre pour déficience intellectuelle avec troubles du comportement, RCIU non rattrapé (- 3DS) à taux d'IgF1 normal, poids au 75ème percentile, microcéphalie (- 3DS) et anomalies squelettiques issue d'un couple non consanguin. L'analyse par ACPA, montre une duplication de 3,34Mb englobant 24 gènes. Une analyse par FISH (sonde SureFISH, Agilent) a confirmé l'anomalie et l'analyse parentale a montré l'origine maternelle de cette duplication. La courbe de croissance de la mère est superposable à celle de sa fille, sa taille finale étant de 1,40m. Elle a suivi une éducation spécialisée et son foyer est sous tutelle et AMO. Elle est la seule de sa fratrie à présenter un retard de croissance et une déficience intellectuelle modérée, et elle est mère de 6 enfants issus de 3 unions différentes. Dans cette fratrie, il est à noter que le frère aîné, non exploré, présente également un retard de croissance et des difficultés d'apprentissage.

La région 3q13.31 est donc une région récurrente d'anomalie chromosomique par délétion ou duplication sur une région minimale critique de 0,6 impliquée dans la survenue de 2 syndromes comportant une déficience intellectuelle. Le premier, associe un excès de croissance et une dysmorphie caractéristique, le second, associant de façon inconstante un retard de croissance. La description des prochains cas de duplication permettra de mieux préciser l'homogénéité ou non du phénotype.

Parmi les gènes de la région, ZBTB20, codant pour une protéine à doigt de zinc, montré comme étant impliqué dans la croissance sur un modèle KO de souris pourrait l'être aussi en cas de surdosage. Parmi les gènes contenu dans l'intervalle critique de 2.76Mb, plusieurs, dont ZBTB20, LSAMP and GAP43, pourraient être impliqués dans le retard de développement.

**Mots-clefs :** 3q13.31, duplication, délétion

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A074/#309

### Premier cas de microdélétion du gène SEMA5A chez un patient atteint de troubles du spectre autistique

Thomas Bourgeron (1), Patrick Callier (2), Dominique Campion (3), Carlos Cardoso (4), Richard Delorme (5), Yannis Duffourd (6), Laurence Faivre (7), Nadège Gigot (6), Alice Goldenberg (8), Lucie Gueneau (6), Céline Henry (9), Nathalie Lagarde (9), Nathalie Marle (2), Alice Masurel-Paulet (10), Anne-laure Mosca-Boidron (11), Francine Mugneret (11), Emilie Pallesi (12), Muriel Payet (2), Clémence Ragon (2), Jean-Baptiste Rivière (13), Antoine Rosier (14), Judith ST-Onge (13), Christel Thauvin-Robinet (7), Julien Thévenon (7)

1. Human Genetics and Cognitive Functions, Institut Pasteur, Paris, France  
2. Laboratoire de Cytogénétique, Plateau technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France  
3. Inserm U614, IHURBM, Rouen, France  
4. INSERM UMR901, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée, Dijon, France  
5. Psychiatrie de l'enfance et de l'adolescence, Hôpital Robert-Debré, Paris, France  
6. Equipe Génétique et Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Faculté de Médecine, Dijon, France  
7. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France  
8. Centre de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France  
9. Centre Ressource Autisme Bourgogne, CHU Dijon, Dijon, France  
10. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, France  
11. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France  
12. INSERM UMR901, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée, Marseille, France  
13. Laboratoire de génétique moléculaire, Plateau technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France  
14. Centre de Ressources Autisme de Haute Normandie, CHU de Rouen, Saint Etienne du Rouvray, France

**Auteur correspondant :** Mosca-Boidron Anne-Laure (moscaal@yahoo.fr)

Les troubles du spectre autistique (TSA) sont caractérisés par une altération des capacités d'interactions sociales réciproques, de communication et par la présence de comportements et d'activités stéréotypés. Ces troubles apparaissent au cours des premières années de la vie et sont souvent associés à un certain degré de retard mental. Les études de population sont en faveur d'une hérédité multifactorielle, les TSA sont associés à une étiologie génétique identifiée dans environ 20% des cas. Les altérations chromosomiques représentent environ 10-20% des cas, les anomalies les plus fréquentes étant les duplications 15q11-q13 et 2q37 et les délétions 22q11.2 et 22q13.3.

Les gènes de prédisposition identifiés jusqu'à présent semblent être impliqués dans la mise en place de la fente synaptique, la sécrétion de protéines de surface, la balance excitation/inhibition et suggèrent que des répercussions sur les processus comme la plasticité synaptique peuvent conduire à un phénotype de TSA. Les sémaphorines, grande famille de protéines sécrétées et transmembranaires, jouent un rôle majeur dans la migration et la croissance des neurones au cours du développement embryonnaire. Ces protéines sont largement exprimées et sont conservées à la fois structurellement et fonctionnellement. Les sémaphorines de classe 5 sont caractérisées par la présence de 7 domaines thrombospondine (TSP) de type 1 qui sont importants dans la régulation du guidage axonal.

Nous rapportons le premier cas de microdélétion de novo du gène SEMA5A associée à une translocation t(5;22)(p15.3;q11.21) chez un patient atteint de TSA. Ce patient présente une déficience intellectuelle sévère avec une IRM cérébrale normale sans malformation associée. Selon les critères de la CIM-10 il présente un trouble envahissant du développement non spécifique. Le remaniement a d'abord été caractérisé par puce SNP puis les points de cassure de la translocation ont été précisés par séquençage haut débit. La délétion de 861 kb n'implique que la fin du gène SEMA5A ce qui correspond au niveau de la protéine aux 5 dernières répétitions du domaine TSP, au domaine transmembranaires et au domaine intracytoplasmique. Afin

de déterminer la contribution potentielle de SEMA5A dans les TSA nous avons cherché des mutations de ce gène chez 142 patients atteints de TSA. Le séquençage de ces patients a permis d'identifier deux variants faux-sens inconnus des bases de données et hérités de la mère. L'analyse in silico de la pathogénicité de ces 2 variants donne une prédiction délétère. Plusieurs arguments montrent déjà SEMA5A comme un gène candidat des TSA : des études d'association, le phénotype des microdélétions 5pter, la sous expression cérébrale de ce gène chez les patients autistes et sa fonction dans la guidance axonale. Notre étude renforce cette hypothèse en décrivant le premier cas de remaniement de ce gène chez un patient atteint de TSA et suggère que même de rares variants hérités peuvent contribuer à ce risque.

**Mots-clés :** troubles envahissants du développement, remaniement chromosomique, semaphorines

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A075/#315

### Recherche d'instabilité chromosomique dans les suspicions d'Anémie de Fanconi au laboratoire de Cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis: Bilan des 5 dernières années

Ahlem AMOURI (1), Olfa KILANI (2), Wiem AYED (2), Faten TALMOUDI (2), Fethi MELLOULI (3), Lamia TORJMANE (4), Amal LAKHAL (4), Monia OUEDERNI (3), Yosr BEN ABDENNEBI (5), Mohamed BEJAOUI (6), Héra BEN ABID (5), Tarek BEN OTHMAN (4), Sondes HDIJI (7), Sonia ABDELHAK (8), de l'Anémie de Fanconi Groupe Tunisien d'Etude (9)

1. Histologie et Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Histologie et Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Immuno-Pédiatrie, CNGMO, Tunis, Tunisie
4. Hématologie, CNGMO, Tunis, Tunisie
5. Hématologie, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie
6. Immuno pédiatrie, CNGMO, Tunis, Tunisie
7. Hématologie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
8. Laboratoire de Génomique Biomédicale et d'Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
9. Hématologie, Hôpitaux, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** AMOURI Ahlem (amouriahlem@yahoo.fr)

L'anémie de Fanconi fait partie du groupe de pathologies caractérisées par une instabilité chromosomique. Elle est marquée par une grande hétérogénéité phénotypique et génétique. Sur le plan clinique, les patients présentent une insuffisance médullaire, un syndrome malformatif variable, une prédisposition à développer des cancers et une hypersensibilité cellulaire aux agents alkylants.

Le diagnostic de cette pathologie repose sur la recherche de signes d'instabilité chromosomique en présence d'un agent pontant. Les plus fréquemment utilisés sont la Mitomycine C (MMC) et le Diepoxybutane (DEB).

Dans notre laboratoire, nous avons opté pour l'utilisation de la MMC. Ainsi, durant les 5 dernières années, 326 demandes de recherche d'une instabilité chromosomique ont été reçues au Laboratoire de Cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis.

Les principaux prescripteurs sont les hématologues, suivis des pédiatres.

Les deux principales indications étaient la présence d'une insuffisance médullaire et/ou un syndrome malformatif.

Sur les 326 demandes, nous avons confirmé le diagnostic d'Anémie de Fanconi chez 73 patients (soit 22,5 % des cas).

Nous détaillerons l'âge des patients lors du diagnostic, les indications cliniques et leur évolution.

Nos résultats seront comparés aux données de la littérature.

**Mots-clés :** Aplasie médullaire, Anémie de Fanconi, Instabilité chromosomique

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A076/#321

### Syndrome microdélétionnel 20q11.2 : définition du phénotype et d'une région minimale critique

Henri Copin (1), Bénédicte Demeer (2), Tania Dery (2), Lisa Ewans (3), Nicola Foulds (4), Guillaume Jedraszak (2), Michèle Mathieu-Dramard (2), Gilles Morin (2), Aline Receveur (1), Karen Temple (4), Astrid Weber (5), Meredith Wilson (3), Joris Andrieux (6), Richard Gouron (7)

1. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU d'Amiens, AMIENS, France
2. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, AMIENS, France
3. Clinical Genetics Unit, The Children's Hospital, SYDNEY, Australie
4. Wessex Clinical Genetics Service, Princess Ann Hospital, SOUTHAMPTON, Royaume-Uni
5. Department of Clinical Genetics, Alder Hey Children's Hospital, LIVERPOOL, Royaume-Uni
6. Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, LILLE, France
7. Service de Chirurgie Orthopédique Pédiatrique, CHU d'Amiens, AMIENS, France

**Auteur correspondant :** Jedraszak Guillaume (guillaumejedraszak@yahoo.fr)

Les délétions interstitielles du bras long du chromosome 20 sont rares. Seulement quatre cas ont été rapportés jusqu'à aujourd'hui avec une délétion 20q11.22q11.23. La comparaison des signes cliniques de ces patients laissait entrevoir l'existence d'un phénotype commun associant une déficience intellectuelle, des difficultés alimentaires avec reflux gastro-œsophagien, des anomalies des extrémités, une dysmorphie faciale, et des malformations d'organe.

Nous rapportons dans cette étude quatre nouveaux patients présentant une délétion 20q11.21-q11.23 de novo, que nous comparons avec les cas précédemment rapportés. Cette étude met en évidence un phénotype commun associant un retard du développement psychomoteur et une déficience intellectuelle (8/8 patients), des troubles autistiques (5/7 patients); des difficultés alimentaires dans les premières semaines de vie (7/8 patients); des anomalies des extrémités (7/8 patients) et notamment des malformations des pieds (6/8 patients); et un déficit auditif de sévérité variable (4/6 patients). A ces signes s'ajoute une dysmorphie faciale (8/8 patients) de sévérité variable, associant un front haut, une enophtalmie, une hypoplasie de l'étage moyen de la face, et une micro-retrognathie. Contrairement aux précédentes observations nous n'avons pas mis en évidence de reflux gastro-œsophagien ou de malformations d'organes récurrentes chez nos quatre patients.

La confrontation des résultats cytogénétiques permet de définir une région minimale critique d'environ 0,4 Mb contenant 11 gènes dont deux sont de potentiels gènes candidats responsable du phénotype. GDF5 est le principal gène candidat pour les anomalies des extrémités. Il code pour un facteur de croissance important dans la régulation du développement squelettique. Des mutations de ce gène sont retrouvées dans de nombreux syndromes avec malformations des extrémités, et parfois des déficits auditifs. Un autre gène, CEP250, a été récemment discuté comme pouvant être un gène mineur responsable du syndrome de Cornelia-de-Lange en raison de similarités dans la présentation phénotypique et de la fonction protéine codée (protéine jouant un rôle dans la régulation du cycle cellulaire et de la transcription). Enfin un autre gène, EPB41L1, pourrait avoir un rôle dans les anomalies neurologiques. Bien qu'en dehors de la région minimale critique, il est délété chez 7 des 8 patients. Une mutation de ce gène, qui code pour une protéine neuronale, a été récemment retrouvée chez un patient présentant une déficience intellectuelle non-syndromique.

Cette étude confirme l'existence d'un phénotype dans la microdélétion 20q11.2, associant déficience intellectuelle, anomalies des extrémités, des difficultés alimentaires dans les premiers jours de vie, et une dysmorphie faciale. Une région minimale critique, contenant notamment les gènes GDF5 et CEP250 et pouvant impliquer EPB41L1, a également pu être définie.

**Mots-clés :** Microdélétion 20q11.2, phénotype commun, région délétée minimale critique

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A077/#328

### Intérêt diagnostique des CNV de petite taille, inférieure à 400kb, détectés en analyse chromosomique sur puce ADN, chez des patients atteints de déficience intellectuelle.

Eric Fonteneau (1), Christel Depienne (2), Caroline Nava (3), Elodie Lejeune (1), Cyril Mignot (4), Aurélie Jacquette (4), Fanny Mochel (4), Delphine Heron (4), Alexis Brice (3), Boris Keren (2)

1. Département de génétique - UF de génétique chromosomique, APHP - GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Département de génétique - UF de génétique chromosomique - CRICM UPMC Inserm UMR S975/CNRS UMR 7225, APHP - GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. CRICM UPMC Inserm UMR S975/CNRS UMR 7225, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Département de génétique - UF de génétique médicale - Centre de référence des déficiences intellectuelles de causes rares, APHP - GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Keren Boris (boris.keren@psl.aphp.fr)

La résolution de l'analyse chromosomique sur puce ADN (ACPA) peut varier grandement, non seulement en fonction du nombre de sondes sur la puce utilisée, mais également en fonction des paramètres d'analyse bioinformatique.

Plus un CNV est de petite taille et moins sa pathogénicité est probable, donc la sensibilité diagnostique n'augmente pas de façon linéaire avec la résolution : plus celle-ci est importante, et plus le nombre total de CNV détectés est grand comparé au nombre de CNV pathogènes, ce qui rend l'analyse plus difficile et multiplie les vérifications à réaliser.

La résolution minimale la plus communément recommandée, en particulier par le Collège américain de génétique médicale, est de 400kb. Il n'existe toutefois pas de consensus sur l'intérêt de descendre en dessous cette limite d'analyse, quand cela est possible.

Nous avons voulu évaluer l'intérêt de détecter des CNV de moins de 400kb dans une série diagnostique de 1187 patients atteints de déficience intellectuelle (DI). Pour cela, nous avons utilisé des puces Illumina humanCytoSNP, comportant 300 000 sondes. Nous n'avons pas fixé de taille minimale de détection des CNV mais utilisé seulement un score de probabilité pour chaque CNV (segmentation binaire linéaire).

Au total, nous avons détecté 4171 CNV de taille < 400kb, soit 83,5% des CNV totaux. Parmi ces CNV, nous en avons retenu 318 à vérifier chez les parents car ils contenaient des séquences codantes et étaient absents de la Database of Genomic Variants, soit 49,7% de notre total de CNV à vérifier.

Cette stratégie, nous a permis de retrouver 6 CNV < 400kb que nous avons considérés comme pathogènes de façon certaine, car touchant des gènes dont l'haploinsuffisance est connue pour être responsable de DI : UBE3A, CAMTA1, FLNA, FOXP1, ANKRD11 et CHD2, ce qui a permis d'augmenter notre nombre de diagnostics réalisés de 4,4%. Nous avons également retrouvé une délétion de DMD, qui est un facteur de susceptibilité à la DI et a permis de poser un diagnostic de dystrophinopathie. Par ailleurs, nous avons identifié 2 délétions de novo que nous avons considérées comme de signification inconnue car touchant des gènes non impliqués en pathologie d'après les connaissances actuelles.

Parmi ces CNV de petite taille que nous avons considérés comme pathogènes et/ou qui sont survenus de novo, tous étaient des délétions et aucun des duplications, alors que ces dernières ont représenté 47% des CNV < 400kb à vérifier.



Pour résumer, conserver les CNV de taille inférieure à 400kb avec les puces que nous avons utilisées :

- 1) multiplie par 6 les CNV détectés
- 2) multiplie par 2 les CNV à vérifier
- 3) augmente de 4,4% le taux diagnostic

De ces résultats, nous déduisons qu'il est intéressant, en diagnostic, de conserver, lors de l'analyse, les CNV de petite taille, même si cela entraîne une plus grande difficulté d'analyse et des vérifications plus fréquentes. On peut toutefois envisager de n'appliquer cette stratégie qu'aux seules délétions.

**Mots-clefs** : CNV, Puce, Résolution

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A078/#329

### L'analyse chromosomique sur puce ADN dans la stratégie diagnostique des patients présentant une agénésie du corps calleux associée à une déficience intellectuelle.

Boris Keren (1), Marie-Laure Moutard (2), Sandra Chantot-Bastaraud (3), Aurélia Jacqueline (4), Cyril Mignot (4), Eric Fonteneau (5), Elodie Lejeune (5), Isabelle Marey (4), Sandra Whalen (6), Didier Lacombe (7), Sophie Naudion (7), Caroline Rooryck-Thambo (7), Annick Toutain (8), Cédric Le Caignec (9), Jennifer Fabre-Teste (10), Laurence Olivier-Faivre (11), Alice Masurel (11), Christel Thauvin-Robinet (11), Anne Faudet (4), Dorothee Ville (12), Vincent Desportes (12), Thierry Billette (2), Delphine Heron (4)

1. Département de génétique - UF de génétique chromosomique - CRicm UPMC Inserm UMR S975/CNRS UMR 7225, APHP - GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

2. Service de neuropédiatrie, APHP - Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France  
3. Laboratoire de cytogénétique, APHP - Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France

4. Département de génétique - UF de génétique médicale - Centre de référence des déficiences intellectuelles de causes rares, APHP - GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

5. Département de génétique - UF de génétique chromosomique, APHP - GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

6. Unité fonctionnelle de génétique clinique, Paris, France, APHP - Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France

7. Service de génétique médicale, CHU Bordeaux - Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France

8. Service de génétique médicale, Hôpital Bretonneau - CHRU Tours, Tours, France

9. Service de Génétique Médicale - Inserm UMR 915/CNRS ERL3147, CHU Nantes - Institut de Biologie, Nantes, France

10. Service de génétique médicale, APHP - Hôpital Robert-Debré, Paris, France

11. FHU-TRANSLAD - Centre de génétique, CHU Dijon - Hôpital d'enfants, Dijon, France

12. Service de neurologie pédiatrique, Hospices civils de Lyon - GH Est, Bron, France

**Auteur correspondant** : Keren Boris (boris.keren@psl.aphp.fr)

L'agénésie du corps calleux est la malformation cérébrale la plus fréquente chez les patients présentant une déficience intellectuelle (CCA-ID) avec une prévalence de 2 à 3 % des cas. Les causes génétiques connues sont hétérogènes et dans la majorité des cas, aucune étiologie n'est retrouvée après l'enquête diagnostique.

Afin de réaliser un diagnostic génétique, nous avons effectué une analyse chromosomique sur puces ADN (ACPA) chez 81 patients atteints de CCA-ID, sans étiologie connue.

Nous avons détecté 34 CNV non précédemment retrouvés chez des sujets sains (répertoriés dans la base de données DGV) et contenant des séquences codantes. Parmi ces CNV : i) 14 (13 délétions et 1 inversion duplication délétion terminale), ayant une taille allant de 1,3 Mb à 24 Mb ont été considérés comme probablement pathogènes et responsables du CCA-ID, soit un taux diagnostique de 17,3% ; ii) 12 CNV (4 délétions et 9 duplications) ont été considérées comme probablement bénignes car aussi retrouvées chez des parents non atteints ; iii) enfin, nous n'avons pas pu conclure pour 8 CNV d'intérêt faut d'avoir pu tester les parents.

Ainsi, l'ACPA est un outil puissant dans la stratégie diagnostique des patients atteints de CCA-ID. Cependant, la majorité des patients testés demeurent sans cause génétique identifiée. Dans un futur proche, les nouvelles techniques telles que le séquençage de l'exome, ou le séquençage massivement parallèle sur des panels de gènes sélectionnés, pourraient améliorer le taux de détection des causes génétiques de CCA-ID.

**Mots-clefs** : Déficience intellectuelle, Agénésie du corps calleux, Puce ADN

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A079/#330

### Les associations télomériques constitutionnelles (tas), une anomalie chromosomique rare. A propos de deux patientes

C Beneteau (1), D Martin-Coignard (2), C Salonne (3), S Baron (4), A David (5), F Jossic (6), D Poulain (5), N Chaumont (7), L Verneau (7), O Pichon (5), K Moradkhani (8), S Schmitt (5), MD Leclair (9), P Piloquet (5), C Le Caignec (10)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de pédiatrie, CH du Mans, Le Mans, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, CH du Mans, Mans, France
4. Clinique Médicale pédiatrique, CHU de Nantes, Nantes, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
6. Laboratoire d'anatomopathologie A, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Service de Pédiatrie, CH du Mans, Le Mans, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
9. Service de Chirurgie Infantile, CHU de Nantes, Nantes, France
10. Service de Génétique Médicale et Inserm UMR\_S1087, CHU de Nantes, Nantes, France

**Auteur correspondant :** Beneteau Claire (claire.beneteau@chu-nantes.fr)

Les associations télomériques (tas) sont définies par des fusions entre deux télomères, sans perte visible de matériel chromosomique, avec la présence de séquence télomérique interstitielle au niveau du chromosome dérivé. Les associations télomériques sont le plus souvent acquises et retrouvées dans les cellules néoplasiques. Les associations télomériques constitutionnelles sont très rares, seulement cinq observations ont été rapportées à ce jour. Nous rapportons deux nouvelles observations d'association télomérique 46,X,tas(Y;7)(p11.32;q36.3) et 46,XX,tas(20;21)(p12;q22.2).

Une amniocentèse a été réalisée chez la patiente 1 en raison de marqueurs sériques augmentés. Le caryotype fœtal a montré une formule 45,X homogène. Les échographies fœtales n'avaient pas montré de malformation fœtale et la grossesse a été menée à terme. En post-natal les explorations complémentaires ont montré que cette petite fille présentait une dysgénésie gonadique, sans aucun autre élément évocateur d'un syndrome de Turner. Un caryotype postnatal a alors été réalisé, retrouvant une association télomérique (Y;7). La fin de la période anténatale de la patiente 2 a été marquée par un macrosomie et un volumineux hydramnios ayant nécessité une ponction évacuatrice de 6 litres de liquide amniotique. Le résultat du caryotype fœtal a montré qu'elle présentait une association télomérique (20;21). L'examen clinique en période néonatale n'a pas montré de particularité.

Les analyses cytogénétiques complémentaires ont confirmé les associations télomériques (Y;7) et (20;21). Des études par FISH et CGH array ont démontré l'absence de délétion chromosomique en particulier au niveau dérivé. Une étude par FISH avec une sonde pantélomérique TTAGGG a montré la présence de séquence télomérique interstitielle au niveau du chromosome dérivé. Chez la patiente 1, de sexe féminin, le gène SRY est présent, sans mutation. Le caryotype post-natal montre deux populations cellulaires en mosaïque: 46,X,tas(Y;7)(p11.32;q36.3) et 45,X. Il existe aussi un mosaïsme tissulaire, avec une population 45,X, majoritaire dans les gonades, qui explique peut-être le phénotype féminin.

Les chromosomes acrocentriques et le chromosome Y sont les plus souvent impliqués dans les associations télomériques. La séquence interstitielle télomérique TTAGGG favorise des cassures au niveau du chromosome dérivé. L'un des deux chromosomes qui a perdu sa séquence télomérique devient alors instable et peut être perdu au cours des mitoses. Pour le chromosome Y, ceci explique peut-être la lignée 45,X. Pour les chromosomes 20 et 21, on peut supposer que la perte d'un des deux chromosomes entraîne l'apoptose de la cellule. Il est important pour les cytogénéticiens de connaître cette anomalie chromosomique rare afin de pouvoir y être attentif.

**Mots-clefs :** association télomérique, tas, télomère

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A080/#334

### Délétion Xp11.4 chez une fille présentant une déficience intellectuelle sévère, une microcéphalie et une hypoplasie ponto-cérébelleuse

Yvan Herenger (1), Valérie Kremer (1), Nadège Calmels (2), Bérénice Doray (3), Lodi Issa-Brunet (4), Héléne Dollfus (3), Didier Devys (1), Eric Guerin (5), Françoise Girard (1), Elisabeth Flori (1)

1. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle et prénatale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
3. Service de génétique clinique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
4. Service de Génétique, Centre Hospitalier Emile-Muller, Mulhouse, France
5. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Herenger Yvan (yvanherenger@yahoo.fr)

Nous rapportons l'observation d'une fillette de 2 ans présentant un déficit intellectuel sévère, une microcéphalie de découverte anténatale d'aggravation progressive après la naissance, un retard de croissance staturo-pondéral pré et postnatal, des difficultés alimentaires néonatales, une épilepsie et une discrète atrophie péri-papillaire bilatérale. A l'IRM cérébrale, il existe une hypoplasie ponto-cérébelleuse. Le caryotype, le bilan métabolique et l'étude du gène FOXP1 (à la recherche d'un syndrome Rett like) sont normaux.

Une SNP Array (CytoScan HD d'Affymetrix, résolution 100 kb) met en évidence une délétion Xp11.4 de 782 kb de survenue de novo incluant le gène CASK (calcium/calmodulin-dépendant serine protéine kinase). L'haploinsuffisance de ce gène, qui est exprimé dans le cerveau, affecte le développement du système nerveux central.

Comme le gène CASK n'échappe pas à l'inactivation de l'X, l'existence chez une fille d'un phénotype associant une déficience intellectuelle, une microcéphalie et une hypoplasie ponto-cérébelleuse peut s'expliquer par une inactivation aléatoire de l'X telle qu'elle est observée aussi bien dans la littérature que chez la patiente rapportée.

Les mutations conduisant à une perte totale de CASK (mutations non-sens, mutations frameshift, délétions) sont létales chez les garçons qui sont hémizygotés pour le chromosome X et responsables, chez les filles, d'un phénotype sévère associant une déficience intellectuelle, une microcéphalie et une hypoplasie ponto-cérébelleuse. Les mutations faux-sens peuvent expliquer certaines déficiences intellectuelles modérées syndromiques observées chez les garçons.

Cette observation souligne l'intérêt de la recherche chez une fille présentant une déficience intellectuelle, une microcéphalie et une hypoplasie ponto-cérébelleuse, d'une mutation dans le gène CASK ainsi que la place de l'analyse chromosomique sur puce à ADN dans les retards mentaux syndromiques.

**Mots-clefs :** microcéphalie, déficience intellectuelle, CASK

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A081/#339

### Identification par CGH array d'une duplication 2q22.1q22.3 comportant ZEB2 chez un enfant ayant une déficience cognitive syndromique

Lenaïg ABILY-DONVAL (1), Nathalie Le Meur (2), Pascal CHAMBON (3), Aude CHAROLLAIS (4), Pascale SAUGIER-VEBER (5), Géraldine JOLY-HELAS (3), Thierry FREBOURG (5), Alice GOLDENBERG (5)

1. département de génétique, CHU de Rouen, ROUEN, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, EFS Normandie, Bois-Guillaume, France
3. laboratoire de cytogénétique, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Service de pédiatrie néonatale, centre de référence des troubles des apprentissages, CHU de Rouen, Rouen, France
5. département de génétique, CHU de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** GOLDENBERG Alice (alice.goldenberg@chu-rouen.fr)

Nous rapportons le cas d'un enfant de 11 ans présentant une déficience intellectuelle et une dysmorphie chez qui une duplication de la région 2q22.1q22.3 a été identifiée par CGH array. L'enfant est née à terme à l'issue d'une grossesse normale. Il s'agit de l'enfant unique d'un couple non consanguin sans antécédent familial particulier. Le développement psychomoteur est initialement décrit comme normal. A l'âge de 3 ans est noté un retard de langage. L'évaluation des fonctions cognitives met en évidence une déficience intellectuelle. L'enfant est orientée en IME vers l'âge de 6 ans. Il n'y a pas de troubles comportementaux ou autistiques. L'examen clinique neurologique retrouve une irritation pyramidale avec des réflexes ostéo-tendineux un peu vifs. L'IRM cérébrale révèle des anomalies de signal bilatérales de la substance blanche sous corticale sans malformation associée. Ces images sont stables sur l'IRM réalisée à 5 ans et 8 ans. Il n'a pas été objectivé d'épilepsie à l'EEG malgré une symptomatologie pouvant évoquer des absences. L'examen morphologique retrouve des sourcils arqués, des fentes palpébrales étroites, un nez long et large avec une pointe bifide, une bouche large, des mal-implantations dentaires associées à une bifidité des incisives latérales, ainsi qu'une hyperlordose. La duplication 2q22.1q22.3 retrouvée chez cette patiente a une taille de 3.6 Mb et implique 5 gènes dont le gène ZEB2. ZEB2 code pour une protéine à doigt de zinc ayant un rôle de répresseur transcriptionnel sur la voie de signalisation des protéines SMAD. Il est impliqué dans le développement des cellules de la crête neurale. L'haploinsuffisance de ZEB2 est responsable du syndrome de Mowatt-Wilson et de cas de maladie de Hirschsprung avec retard mental. Ainsi, le caractère de novo de cette duplication et le rôle de ZEB2 sont en faveur de la pathogénicité de ce remaniement. Bien qu'aucune duplication comparable n'ait été préalablement décrite, il est à noter que les duplications de ZEB2 préalablement rapportées sont toujours associées à des duplications du gène MBD5 lui-même associé à l'autisme. Il s'agit donc d'une observation unique de déficience intellectuelle modérée et syndromique avec duplication de novo de ZEB2 sans duplication de MBD5. Bien que d'autres observations soient nécessaires pour conforter cette hypothèse, ce cas suggère que l'altération du dosage génique de ZEB2 puisse être à l'origine d'un retard mental syndromique.

**Mots-clefs :** déficience intellectuelle, dysmorphie, microduplication ZEB2

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A082/#360

### Caractérisation moléculaire d'un réarrangement complexe d'un chromosome 13 chez un fœtus présentant une anomalie du pôle céphalique

Sophie Martin (1), Nicolas El Hage Assaf (2), Sandrine Reynaud (3), Isabelle Labrousse (3), Nathalie Deserces (4), Catherine Yardin (3), Sylvie Bourthoumieu (3)

1. Service de foetopathologie, CHU Dupuytren, Limoges, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital, Tulle, France
3. Service de Cytogénétique, Hôpital de la mère et de l'enfant, Limoges, France
4. Service de Cytogénétique, Hôpital de la mère et de l'enfant, LIMOGES, France

**Auteur correspondant :** Bourthoumieu Sylvie (sylvie.bourthoumieu@unilim.fr)

Les réarrangements intrachromosomiques constitutionnels impliquant plus de 4 points de cassure sont des événements particulièrement rares.

Nous rapportons le cas d'un remaniement complexe d'un chromosome 13 découvert chez un fœtus présentant à l'échographie du 1er trimestre une anomalie du pôle céphalique. Devant le pronostic péjoratif de cette anomalie, la grossesse est interrompue à 13 semaines d'aménorrhée. L'examen foetopathologique retrouve un œdème rétro-cervical, une dilatation ventriculaire importante, une syndactylie bilatérale et une imperforation anale.

Un caryotype réalisé à partir d'une biopsie de trophoblaste révèle un remaniement complexe d'un chromosome 13. Afin d'identifier ce réarrangement, des investigations complémentaires sont réalisées en cytogénétique moléculaire (FISH) à l'aide de différentes sondes (sondes alpha-satellites, BACs...). L'hybridation in situ fluorescente (FISH) montre que ce chromosome 13 dérive de deux inversions successives, une péricentrique puis une paracentrique, associées à une délétion terminale. La formule chromosomique est la suivante : 46,XX,der(13)dn.ish der(13)(pter→p12 ::q13→p12 ::q32→q13 ::p11.2)(wcp13+,p11.2+++ ,D13Z1/D21Z1+,RP11-760M1+,RP11-408E5+,RP11-332E3+,RB1+,RP11-56M2+,RP11-12G12-,163C9-,D13S327-). Ces deux inversions n'ont pas été retrouvées sur les caryotypes parentaux.

La délétion terminale du chromosome 13 est associée au syndrome 13q- caractérisé par un retard de croissance, une dysmorphie faciale, des malformations cérébrales (holoprosencéphalie), cardiaques, génito-urinaires, squelettiques et un retard mental. Des corrélations génotype-phénotype ont montré que la délétion du gène ZIC2 est particulièrement impliquée dans les malformations crânio-faciales. Dans le cas présenté, le gène ZIC2 en 13q32 est délété mais les malformations cérébrales restent mineures (ventriculomégalie) par rapport aux cas décrits dans la littérature.

Ce cas illustre l'intérêt de la FISH pour caractériser des remaniements complexes à la fois équilibrés et déséquilibrés.

**Mots-clefs :** réarrangement complexe d'un chromosome 13, anomalie foetale du pôle céphalique, cytogénétique moléculaire (FISH)

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A083/#365

### Délétions de ZC4H2 et association à l'arthrogrypose

Audrey Briand-Suleau (1), Daniel Amram (2), Lucie Tosca (3), Delphine Héron (4), Bassim Tou (5), Sandra Whalen (4), Hina Simonet (4), Wilfried Verbecq-Morlot (6), Kim Maincent (7), Florence Guillou (7), Sarah Funtowicz (2), Jérôme Bouligand (8), Sophie Brisset (9), Mantel Anne (8), Michel Goossens (1), Gérard Tachdjian (9), Corinne Métay (10)

1. AP-HP, Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génétique Constitutionnelle et 2. INSERM U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. 3. UF de Génétique Clinique, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
3. 4. AP-HP, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Université Paris Sud et 5. INSERM U935, Hôpital Antoine Bécère, Clamart, France
4. 7. UF de Génétique Médicale, Département de génétique et Cytogénétique, HU La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. 6. Service de génétique moléculaire, pharmacologie et hormonologie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
6. 2. INSERM U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
7. 8. Service de Rééducation orthopédique de l'enfant, Hôpitaux de Saint-Maurice, Saint-Maurice, France
8. 6. Service de génétique moléculaire, pharmacologie et hormonologie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
9. 4. AP-HP, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Université Paris Sud, Hôpital Antoine Bécère, Clamart, France
10. 1. AP-HP, Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

**Auteur correspondant :** Métay Corinne (corinne.metay@hmn.aphp.fr)

L'arthrogrypose congénitale multiple (AMC) est une famille composée de différentes maladies caractérisées par des raideurs articulaires multiples. Elle est associée à plus de 300 maladies différentes, dont la plupart comportent des malformations et/ou un retard neurocognitif. Le diagnostic précis s'avère donc essentiel afin d'orienter le traitement.

Des mutations dans le gène ZC4H2 ont été décrites chez des cas d'AMC liée à l'X. Jusqu'à présent, seuls 3 cas présentant des délétions hétérozygotes de ce gène ont été décrits. Nous rapportons un quatrième cas de délétion hétérozygote de ZC4H2 chez une petite fille porteuse d'une arthrogrypose, une luxation bilatérale des hanches, un genou recurvatum et des mains en flexion. Un retard cognitif modéré est associé au retard moteur. Cette délétion a été détectée par analyse chromosomique sur puces à ADN. Elle s'est avérée de novo après analyse des parents.

Les 3 autres cas décrits sont des femmes. Deux sont porteuses d'une délétion ne contenant que ZC4H2 (Hirata H et al\_AJHG\_2013), celle de la troisième emporte 3 autres gènes et un miRNA (Holman SK et al\_Clin Gen\_2013). Cette dernière a été décrite dans une étude sur l'ostéopathie striée sclérose crânienne avec déficit intellectuel et présente diverses malformations dont une polydactylie postaxiale des mains, des poings fermés avec articulations immobiles et les extrémités des doigts en spatule. Les symptômes des deux autres cas sont caractérisés par une camptodactylie, des pieds bots, une déformation ou contracture du tendon d'Achille, une faiblesse musculaire distale, une déficience intellectuelle, une dysarthrie et/ou un retard de langage. Une incontinence urinaire est associée. Aucune hérédité n'est précisée pour ces 3 patientes.

Le gène ZC4H2 code un membre de la famille des protéines à domaine en doigt de zinc. Des études fonctionnelles dans des modèles murins et chez le Zebrafish ont montré une fonction neuronale au niveau du système nerveux central et périphérique. Son expression est élevée durant l'embryogenèse puis diminue après la naissance. Cette protéine est localisée au niveau post synaptique des synapses excitatrices. Elle semble essentielle au développement des motoneurons alpha.

L'étude d'Hirata oriente vers une corrélation entre la sévérité des manifestations cliniques, le type et lieu des mutations touchant ZC4H2 ainsi que le degré d'inactivation de l'X.

Le quatrième cas de délétion de ZC4H2 que nous rapportons chez une petite fille présentant une arthrogrypose renforce le rôle de ce gène dans la physiopathologie de cette maladie. Nous avons observé un biais d'inactivation de l'X permettant d'expliquer l'intensité des manifestations cliniques. Au vu de ces résultats, il semble donc essentiel de tenir compte des mutations pouvant affecter ZC4H2 lors du conseil génétique de manifestations neuromusculaires et de demander une étude de ce gène en présence d'une arthrogrypose ou un pied bot associé à des difficultés intellectuelles.

**Mots-clés :** arthrogrypose, ZC4H2, délétion



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A084/#373

### A propos d'un cas d'un remaniement déséquilibré cryptique en mosaïque : importance de l'examen clinique pour l'interprétation de l'ACPA et pour la réalisation d'une ACPA – tissu spécifique.

Joelle ROUME (1), François VIALARD (2), Séverine COGNARD (3), Delphine FAUVERT (4), Denise MOLINA-GOMES (5)

1. Service de cytogénétique, biologie de la reproduction et Génétique Médicale, CHI Poissy - St Germain en Laye, POISSY, France
2. Service de Cytogénétique, Biologie de la Reproduction, Génétique Médicale, CHI Poissy St Germain en Laye, POISSY, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, de Biologie de la Reproduction et de Génétique Médicale, CHI Poissy St Germain en Laye, POISSY, France
4. Fédération de Génétique, CHI de Poissy St Germain en laye, POISSY 78300, France
5. Fédération de génétique, CHI Poissy St Germain en Laye, POISSY 78300, France

**Auteur correspondant :** ROUME Joelle (drjroume@gmail.com)

Nous rapportons l'observation d'un garçon vu à 2 ans et 8 mois pour un retard de croissance intra utérin non rattrapé associé à un retard de développement : taille, PC à -2/-3DS, poids au 3ème percentile. Cet enfant présente une dysmorphose: brachyplagiocéphalie, faciosténose, cheveux bas implantés, une CIV spontanément fermée, une hernie inguinale, un méat urétral double L'examen clinique montre des tâches blaschkoïdes thoraco-abdominales. Il est actuellement pris en charge en CAMSP et scolarisé en pré élémentaire avec AVS. L'histoire familiale est non contributive. L'EEG, l'IRM cérébromédullaire, le bilan biologique standard et le bilan métabolique sont normaux. Le caryotype et l'ACPA sur leucocytes sont normaux. En raison des tâches blaschkoïdes, il est décidé de réaliser un prélèvement salivaire pour effectuer une nouvelle ACPA (kit OragenO). Celle ci met en évidence une translocation déséquilibrée (arr5q35.1q35.3(170,557,065-180,712,263)x2~3,9q34.3(140,151,657-141,018,984)x1~2):46,XY,der(9)t(5;9)(q35.1;q34.3) cryptique, en mosaïque non vue sur l'ACPA leucocytaire. Celle-ci a été confirmée par FISH sur leucocytes, elle est de novo.

Elle implique 2 régions bien connues pour être le site de syndromes microdélétionnels récurrents: (i) la région 5q35 comportant le gène NSD1 impliquée, lorsqu'elle est délétée, dans le syndrome de Sotos (ii) la région 9q34 contenant le gène EHMT1 impliquée, lorsqu'elle est délétée dans le syndrome de Kleefstra. Les corrélations phénotype – génotype chez notre patient sont commentées au regard des cas déjà publiés dans la littérature. Le mécanisme de survenue des remaniements déséquilibrés en mosaïque est complexe : 4 hypothèses ont été proposées : (1) Echange mitotique entre chromatides non homologues, suivi par la perte d'une des chromatides remaniées (2) Zygote porteur d'un déséquilibre: perte du chromosome anormal dans un contingent cellulaire et correction de la monosomie secondaire par une duplication du chromosome normal, avec isodisomie pour ce chromosome. (3) Ségrégation méiotique 3:1 suivie de la perte d'un chromosome normal dans une cellule et de la perte du dérivé dans une autre cellule. L'impact phénotypique de ces 3 mécanismes de remaniement sera dépendant du moment de survenue dans le développement, de la ou des lignées cellulaires touchées (4) Chimérisme: lié à la présence de lignées cellulaires génétiquement différentes chez un individu issu de 2 zygotes différents ou plus. Les mosaïques impliquant une lignée cellulaire normale et un dérivé de translocation sont rarement mises en évidence, encore plus celles qui sont cryptiques. Les phénotypes résultant sont variés, corrélés aux gènes impliqués, aux tissus porteurs de la mosaïque et à la proportion des lignées cellulaires normale et remaniée. Enfin, la présence de lignes de Blaschko doit faire évoquer au clinicien un remaniement

déséquilibré en mosaïque à l'état cryptique, en demandant une ACPA - tissu spécifique.

**Mots-clefs :** Remaniement déséquilibré cryptique en mosaïque, Analyse Chromosomique Par puce à ADN tissu spécifique, Hypomélanose de Ito, Lignes de Blaschko

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A085/#376

### Microdélétion de TCF12 chez un patient présentant une cranie-sténose coronale associée à un retard mental secondaire à un remaniement chromosomique maternel complexe.

Charles Coutton (1), Pauline Le Tanno (2), Brice Poreau (3), Françoise Devillard (2), Gaëlle Vieville (2), Florence Amblard (2), Pierre-Simon Jouk (3), Véronique Satre (1)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Département de Génétique et Procréation, Hôpital Couple Enfant et Université Joseph Fourier, AGIM CNRS FRE3405, Equipe "Andrologie, Génétique et Cancer", CHU Grenoble, Grenoble, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Département de Génétique et Procréation, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
3. Service de Génétique Clinique, Département de Génétique et Procréation, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France

**Auteur correspondant :** Coutton Charles (ccoutton@chu-grenoble.fr)

Nous exposons ici le cas d'un jeune patient présentant un retard psychomoteur et une malformation cranio-faciale due à une cranie-sténose coronale. Le caryotype révèle la présence d'une translocation cytogénétiquement équilibrée entre les chromosomes 2 et 15 [t(2;15)(q21;q21.3)], héritée de sa mère.

L'étude complémentaire par analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) 180K met en évidence une délétion de novo de 3,64 Mb sur le chromosome 15 au niveau du point de cassure de la translocation 15q21.3q22.2. La délétion est responsable d'une haploinsuffisance du gène TCF12 pouvant expliquer la cranie-sténose. L'étude par FISH montre la présence chez la mère d'un remaniement chromosomique plus complexe associant à la fois une translocation réciproque et une insertion du segment 15q22.1 au niveau de la région télomérique du segment transloqué du chromosome 15, sur le dérivé du chromosome 2. Le déséquilibre chez l'enfant peut s'expliquer par la formation d'une double boucle d'appariement lors de la méiose avec survenue d'un crossing-over en dehors du segment inséré. L'analyse chromosomique sur puce à ADN 1M, en précisant les points de cassure, fait émerger l'hypothèse de remaniements médiés par la présence d'éléments transposables.

L'utilisation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN a permis un gain diagnostic considérable en détectant les anomalies cryptiques non visibles au caryotype y compris dans les remaniements d'allure équilibrée. Mais ce cas illustre en plus l'importance de l'analyse par FISH pour confirmer les résultats d'ACPA et identifier les mécanismes chromosomiques à l'origine des déséquilibres.

**Mots-clefs :** craniosynostose, délétion 15q21, TCF12, réarrangement chromosomique complexe, translocation, insertion, analyse chromosomique sur puce à ADN, déficience intellectuelle

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A086/#401

### Microdélétion 4q26q28.1 : première observation en mosaïque

Jonathan Lévy (1), Laila El Khattabi (2), Géraldine Viot (3), Dominique Le Tessier (1), Aziza Lebbar (1), Jean-Michel Dupont (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin, APHP, Hôpitaux Universitaires Paris Centre, Paris, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin, APHP, Hôpitaux Universitaires Paris Centre, France, Paris, France
3. Maternité de Port Royal, Hôpitaux Universitaires Paris Centre, France, Paris, France

**Auteur correspondant :** LEVY Jonathan (levyjonath@gmail.com)

De rares observations de délétions interstitielles du bras long du chromosome 4, pures et de taille variable, ont été décrites dans la littérature. La délétion interstitielle 4q26q28.1 n'a été décrite que trois fois, dont une famille de trois générations incluant sept patients. Dans cette famille, le diagnostic de syndrome de Noonan avait été initialement évoqué chez les cas index. Nous rapportons une nouvelle observation de cette délétion et le premier cas en mosaïque. Elle a été découverte chez un garçon de 2 ans et demi adressé pour un des troubles de l'alimentation, une petite taille et une discrète dysmorphie faciale. La grossesse a été marquée par une hyperclarté nucale ainsi qu'un retard de croissance intra-utérin portant sur les os longs avec une naissance à 35 SA+6j. Devant la suspicion clinique de syndrome de Noonan, une étude postnatale du gène PTPN11 est demandée et est normale. Le caryotype de l'enfant met en évidence un isochromosome du bras court du chromosome Y, i(Yp) homogène dans l'ensemble des cellules examinées, sans rapport avec le phénotype. Une étude complémentaire par CGH-array (Agilent 8X60K) révèle une délétion interstitielle du bras long du chromosome 4 de novo en 4q26q28.1 de 6.8 Mb emportant 19 gènes OMIM dont FGF2, SPRY1, NUDT6, KIAA1109, ADAD1, IL2 et IL21 (hg19 : 1,442,161-127,252,263). Cette délétion a été confirmée en FISH par hybridation du BAC RP11380-N20 qui a montré qu'elle était en mosaïque dans 75% des cellules examinées.

Il s'agit ici d'une anomalie chromosomique constitutionnelle inhabituelle, par remaniement de structure en mosaïque, impliquant un chromosome autosomique retrouvé chez un enfant suspecté d'avoir un syndrome de Noonan. Le syndrome de Noonan (NS) et les syndromes Noonan-like (NLS) sont des troubles autosomiques dominants causés par des mutations hétérozygotes dans les gènes de la voie RAS / MAPK. Cette observation souligne l'importance de réaliser une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) lorsque l'étude des mutations connues des gènes de la voie RAS- MAPK est normale.

Elle pose également plusieurs questions : l'origine des remaniements de structure autosomiques en mosaïque, mitotique post-zygotique ou éventuellement méiotique, du mécanisme de ce remaniement en mosaïque et de son implication pour le conseil génétique.

**Mots-clefs :** Délétion 4q26q28.1, Mosaïque, Noonan

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A087/#404

### Triplication 18q12.3q21.1 impliquant le gène SETBP1 et déficience intellectuelle sévère

Céline Bonnet (1,2), Laëtizia Lambert (3), Jean-Luc Schaff (4,5), Mylène Dexheimer (1), Bruno Leheup (2,3), Philippe Jonveaux (1,2)

1. Pôle Laboratoire, Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy, Vandoeuvre les Nancy, France
2. Unité INSERM 954, Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France
3. Pôle Enfants, Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHU de Nancy, Vandoeuvre les Nancy, France
4. Pôle Neuro-tête-cou, Service de Neurologie, CHU de Nancy, Vandoeuvre les Nancy, France
5. IME, Flavigny sur Moselle, France

**Auteur correspondant :** BONNET Céline (ce.bonnet@chu-nancy.fr)

Les mutations hétérozygotes de novo du gène SETBP1 ont été identifiées par Hoischen et al. en 2010 par l'approche de séquençage exome chez des patients avec un syndrome de Schinzel-Giedion (déficit intellectuel sévère, dysmorphie faciale caractéristique et malformations congénitales). Il s'agit d'un syndrome sévère puisque la plupart des patients décèdent avant l'âge de 10 ans. Les mutations identifiées sont principalement localisées dans une région exonique de 11 pb et les auteurs suggèrent soit un effet dominant négatif soit un effet gain de fonction.

Nous rapportons ici le cas d'un patient âgé de 15 ans présentant un tableau de retard sévère du développement psychomoteur (avec absence de langage verbal contrastant avec une bonne compréhension) et une épilepsie. Dans les antécédents familiaux on retrouve la notion de fausses-couches à répétition chez la grand-mère maternelle et chez la mère du patient. A l'examen clinique une dysmorphie faciale est observée. Des troubles du comportement de type autistique sont notés. Les parents décrivent des troubles importants du sommeil.

Le bilan génétique montre que les caryotypes du patient et de ses parents sont normaux. L'analyse chromosomique en microréseau a permis d'identifier chez le patient une triplication interstitielle en 18q12.3q21.1 de novo, d'une taille de 1,6 Mb, contenant plusieurs gènes dont le gène SETBP1 (arr[hg19] 18q12.3q21.1(42,047,291-43,724,163)x4 dn). Cette triplication a été confirmée par qPCR et la base de données DGV ne répertorie pas de polymorphisme identique.

Filges et al., 2011 ont décrit des microdélétions emportant le gène SETBP1 chez des patients avec un phénotype moins sévère et différent de celui observé dans le syndrome de Schinzel-Giedion. Ces délétions sont associées à une expression diminuée du gène SETBP1 (au niveau des fibroblastes). Aucun cas de duplication ou triplication du gène SETBP1 n'est décrit dans la littérature. Dans la base de données DECIPHER, une duplication de plus petite taille (1,24 Mb) de novo est décrite, touchant la totalité du gène SETBP1 et une partie du gène voisin chez un patient avec déficit intellectuel, retard de langage et dysmorphie faciale (patient 253569).

Le tableau clinique décrit chez notre patient n'est pas le même que celui observé dans le syndrome de Schinzel-Giedion. En dehors de la déficience intellectuelle, les autres éléments cliniques tels que la dysmorphie faciale caractéristique ou le décès précoce ne sont pas retrouvés. La présence de 4 copies complète du gène SETBP1 est potentiellement responsable d'une surexpression. La fonction de la protéine SETBP1 est mal connue, elle se lie aux domaines SET qui sont impliqués dans la méthylation des histones. C'est une protéine ubiquitaire.

Au total, nous décrivons le premier cas de triplication 18q12.3q21.1 affectant la totalité du gène SETBP1 chez un patient avec déficience intellectuelle sévère et un tableau différent de celui observé dans le syndrome de Schinzel-Giedion.

**Mots-clefs :** déficience intellectuelle, triplication 18q12.3q21.1, SETBP1

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A088/#427

### Délétion interstitielle de novo en 2p23.2-24.1 : description phénotypique, surdité neurosensorielle et absence du syndrome de Feingold

Andréas Diplas (1), Beverly Emanuel (2), Nicole Revencu (1), Xavier Pepermans (1), Maria Santa Rocca (3), Yves Sznajer (1)

1. Centre de Génétique humaine, Cliniques universitaires St-Luc, et U.C.L, Bruxelles, Belgique
2. Division of Human Genetics and Department of Pediatrics, the Children's Hospital of Philadelphia, Perelman School of Medicine at the University of Pennsylvania, Philadelphia, USA
3. Institute for Maternal and Child Health, IRCCS B Garofolo, Trieste, Italie

**Auteur correspondant :** Sznajer Yves (yves.sznajer@uclouvain.be)

La survenue de délétions interstitielles distales du chromosome 2p sont rarement rapportées: à ce jour, neuf descriptions de patients ont été publiées.1-8 Les trois dernières ont été diagnostiquées suite à la réalisation du caryotype moléculaire (SNP-array).6-8

Nous présentons l'histoire naturelle d'un garçon de 8 ans au dysmorphisme fait d'un visage rond, d'un front étroit, aux fentes palpébrales obliques vers le haut et le dehors, à la bouche dont la lèvre supérieure présente un vermillon marqué et un philtrum court (chapeau de gendarme) et une macrosomie post-natale, une microcéphalie, une hypotonie et un retard global développement. Le caryotype moléculaire a permis l'identification d'une délétion survenue de novo de 7.4 Mb en 2p23.2- p24.1. Développant aussi une neuropathie auditive et la délétion incluant le gène OTOF (codant pour l'Otoferline), le séquençage de ce gène a été complété (second allèle) pour tenter de définir complètement l'origine de cette surdité (DFNB9). Aucune mutation n'a été retrouvée. Enfin, les patients décrits à ce jour ne présentent d'atrésie oesophagienne ou de troubles alimentaires ni de syndactylie tels que retrouvés chez les patients maintenant caractérisés porteurs du syndrome de Feingold par haploinsuffisance du gène NMYC localisés en 2p23.2-9

Les données cliniques et la revue de la littérature sont intégrées aux données phénotypiques des patients historiquement décrits par Emanuel et al. en 1979 porteurs de del(2)p(23.2;24.1) et de la région 2p23.2 en particulier et des patients diagnostiqués par caryotype moléculaire alors dont le présent patient.

#### Références

- 1- Celli J., et al. Am J Hum Genet 2000; 66:436-444
- 2- Emanuel BS, et al. Am J Med Genet 1979;4(2):167-172
- 3- Francis GL., et al. J Med Genet 1990 ;27:137-138
- 4- Neidich J, et al. Am J Med Genet 1987;27(3):707-10
- 5- Penchaszadeh VB et al. Am J Med Genet 1987;27(3):701-706
- 6- Saal HM, et al. Am J Med Genet 1996;66(4):373-377
- 7- Shoukier M, et al. Am J Med Genet 2012;158A(2):429-433
- 8- Su PH, et al. Pediatr Neonatol 2011;52(1):46-50
- 9- van Bokhoven H, Nat Genet 2005;37(5):465-467

**Mots-clefs :** microdélétion 2p23, surdité neurosensorielle, Feingold syndrome

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A089/#437

### Délétion intragénique en mosaïque de FBN2 chez un fœtus présentant une arthrogrypose sévère et diminution des mouvements actifs foetaux

Alinoë Lavillaureix (1), Sandra Chantot-Bastarud (1), Capucine Hyon (1), Isabelle Marey (2), Antoinette Gelot (3), Romulus Grigorescu (1), Delphine Héron (2), Jean-Pierre Siffroi (1), Sandra Whalen (1)

1. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, APHP, UMPC, Paris, France
2. Département de génétique - UF de génétique médicale - Centre de référence des déficiences intellectuelles de causes rares, APHP - GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service d'Anatomie Pathologique, Unité de Neuropathologie, Hôpital Armand Trousseau, APHP, UMPC, Paris, France

**Auteur correspondant :** Whalen Sandra (sandra.whalen@trs.aphp.fr)

Nous rapportons le cas d'un foetus ayant un phénotype d'arthrogrypose congénitale sévère associée à une arachnodactylie, présentant une délétion intragénique de FBN2 en mosaïque.

L'arachnodactylie congénitale avec contractures (CCA) ou syndrome de Beals (arthrogrypose distale de type 9 MIM #121050) est une maladie du tissu conjonctif caractérisée par des contractures congénitales multiples en flexion s'améliorant dans le temps, un habitus marfanoïde avec arachnodactylie, pavillons auriculaires anormaux et hypoplasie musculaire. L'évolution est marquée par une scoliose et une dilatation aortique dans certains cas.

Ce syndrome, de transmission autosomique dominante, est dû à des mutations du gène FBN2 localisé en 5q23. Dans les rares cas de formes sévères ou létales décrits, des malformations cardiaques telles que communication interauriculaire (CIA) ou interventriculaire, arche aortique interrompue et/ou des malformations gastro-intestinales s'associent au phénotype classique. Parmi ces patients, aucune mutation de FBN2 n'a été identifiée à l'exception d'une mutation d'épissage responsable du saut de l'exon 34. Il est cependant à noter qu'aucune technique autorisant la détection de variation de nombre de copie de type MLPA ou CGH-array n'a été utilisée chez ces patients.

Notre cas index est un foetus pour lequel une interruption médicale de grossesse (IMG) a été réalisée à 28 SA en raison d'un tableau d'immobilisme foetal avec arthrogrypose. Il n'y avait pas de prise de toxiques par la mère, l'échographie de 12 SA +4j était normale avec une clarté nucale à 1,5mm. A 23 SA +2j le foetus était en siège complet avec des mensurations normales pour le terme, des pieds et mains vus mais repliés. A 27 SA, le siège persistait associé à une mobilité foetale pauvre, une quantité modeste de liquide amniotique et des mouvements respiratoires fréquents et importants. Les mains étaient en hyperflexion et une rétraction en griffe des orteils était suspectée. Le bilan génétique retrouvait un caryotype normal 46 XY, les recherches de maladie de Steinert, d'amyotrophie spinale, de myasthénie maternelle et de syndrome de Prader-Willi étaient négatives. A l'examen foetopathologique le foetus était masculin, eutrophe pour 28 SA et présentait une dysmorphie faciale comprenant des oreilles anormales, un palais creux et un rétrognathisme. Les membres étaient fléchis de manière irréductible, avec des mains en flexion et des pieds en piolet. Le foetus présentait une hypoplasie musculaire des membres et des muscles pectoraux. L'examen interne révélait une hypoplasie pulmonaire, une stase hépato-splénique ainsi qu'un cœur avec apex bifide et CIA ostium secundum. L'examen neuropathologique et neuro-musculaire était normal. Une SNP-array réalisée après l'IMG a mis en évidence une délétion en mosaïque d'environ 102kb interrompant FBN2, confirmée en FISH et survenue de novo. Il s'agit du premier cas décrit de délétion intragénique de FBN2 associée à un phénotype de CCA sévère.

**Mots-clefs :** FBN2, arthrogrypose, arachnodactylie congénitale avec contractures

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A090/#439

### La CGH-array chez des patients Rwandais atteints de déficience intellectuelle et d'anomalies congénitales

Annette UWINEZA (1), Janvier HITAYEZU (2), Mauricette JAMAR (3), Jean-Hubert CABERG (3), Vinciane DIDEBERG (1), Léon MUTESA (4), Vincent BOURS (1)

1. Service de Génétique, Centre Hospitalier de Liège, Liège, Belgique
2. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Kigali, Kigali, Rwanda
3. Service de Génétique, Centre Hospitalier de Liège, Liège, Belgique
4. Faculté de Médecine, Université du Rwanda, Kigali, Rwanda

**Auteur correspondant :** UWINEZA Annette (auwineza@doct.ulg.ac.be)

La déficience intellectuelle est un problème majeur de santé publique, néanmoins il n'y a pas assez de données disponibles sur son étiologie génétique en Afrique Sub-Saharienne.

L'étude a été réalisée sur 50 patients atteints de déficience intellectuelle associée ou non à des anomalies congénitales.

Des patients âgés de 1 mois jusqu'à 18 ans ont été recrutés dans les services de pédiatrie des Centre Hospitalier Universitaire du Rwanda au cours de l'année 2012.

La CGH-array a été réalisée au Centre de Génétique Humaine de Liège sur une platform 180k Agilent, et a détectée 14 anomalies (28%) dont 10 délétions et 4 duplications. Six patients présentaient des anomalies liées à des syndromes connus tel que le syndrome de William-Beuren, une duplication 7q23.11, une délétion 22q11.21 (chez deux patients), une délétion 8p23.1 et une délétion 17q21.31. Des remaniements chromosomiques rares ont été détectés chez 8 patients: une trisomie 18p, une délétion 6q16.1-q21, une duplication 1p35.3-p31.3, une délétion 8p23.1, une délétion 7q34-q36.2, une délétion 2q33.1-q33.3 et une délétion 10p15.3-p14. Une patiente avait une duplication 8q24.3 concomitante avec délétion 16p13.3. La CGH-array se révèle être un puissant outil pour l'identification d'anomalies chromosomiques.

**Mots-clefs :** CGH-array, Déficience intellectuelle, Anomalies congénitales

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A091/#443

### Délétion 3q26.31q26.32 et haploinsuffisance du gène TBL1XR1 impliquée dans la déficience intellectuelle.

Camille LEROY (1), Alain Verloes (1), Céline Dupont (1), Emilie Serrano (1), Jean-François Gadisseux (2), Brigitte Benzacken (1), Anne-Claude Tabet (1)

1. Département de Génétique, Hopital Robert Debré, Paris, France
2. Neuropédiatre, -, Paris, France

**Auteur correspondant :** LEROY Camille (camillejeanne@wanadoo.fr)

L'utilisation récente de puces à ADN dans le diagnostic génétique de patients porteurs d'une déficience intellectuelle permet l'identification de gènes candidats, en particulier par la mise en évidence d'un remaniement chromosomique apparu de novo et n'impliquant qu'un seul gène.

Nous rapportons ici le cas d'une petite fille présentant un retard psychomoteur non syndromique, pour laquelle une délétion 3q26.31q26.32 a été mise en évidence par puce à ADN. Cette délétion de 1,6 Mb, apparue de novo, emporte un seul gène candidat : TBL1XR1.

La patiente, âgée de 6 ans, a été adressée en consultation de génétique pour une déficience intellectuelle légère à modérée (QI : 50), associée à des troubles du comportement (agressivité, déficit attentionnel et comportements compulsifs) n'entrant toutefois pas dans le cadre des Troubles du Spectre Autistique (TSA) (score CARS (Childhood Autism Rating Scale) normal). L'examen clinique n'a pas révélé d'anomalies morphologiques associées. L'IRM cérébrale et l'EEG sont normaux.

Le caryotype et l'étude du gène FMR1 n'ont pas permis de mettre en évidence d'anomalies.

L'analyse en puce à ADN (Illumina Human Cyto SNP-12 V2) a révélé une délétion de 1,6 Mb : arr[hg19] 3q26.31q26.32(175,507,453-177,095,072)x1. Cette délétion a été confirmée par la technique de FISH. L'étude parentale a permis de montrer qu'elle était apparue de novo.

Le segment délété comporte 2 gènes OMIM, ainsi que 5 pseudogènes et un ARN non codant. Le gène TBL1XR1 (OMIM 608628) a été impliqué dans la déficience intellectuelle et les TSA chez des patients présentant une mutation ponctuelle (O'Roak et al., 2012).

La délétion emporte également le dernier exon du gène NAALADL2 (OMIM 608806) qui n'a, à ce jour, jamais été impliqué dans une pathologie humaine.

Nous confronterons notre cas aux données de la littérature et discuterons de l'implication potentielle de l'haploinsuffisance du gène TBL1XR1 dans une forme de déficience intellectuelle autosomique dominante s'associant ou non à un trouble du spectre autistique.

**Mots-clefs :** Délétion, TBL1XR1, Déficience intellectuelle non syndromique



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A092/#444

### Identification par CGH array d'une délétion 19p13.2p13.12 chez une patiente présentant une avance staturale et anomalies congénitales multiples

Abdelhafid Natiq (1)

1. génétique médicale, Institut National d'hygiène/ faculté des sciences, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** Natiq Abdelhafid (abdelnat@yahoo.fr)

De nombreux syndromes associant des anomalies congénitales multiples et une avance staturale ont été décrits. Ces pathologies résultent soit de causes monogéniques comme le syndrome de Sotos, Weaver ou le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel, soit de causes chromosomiques, comme la délétion 19q13, la délétion 13q14 ou la duplication 15q26.1.

Nous rapportons ici, l'observation de d'une petite fille âgée de 2 ans, issue d'une union non consanguine, née par césarienne, 5ème d'une fratrie de cinq. Elle a présenté une hypotonie néonatale axiale sévère et des crises épileptiques généralisées dès la période néonatale. A l'examen clinique à l'âge de 21 mois, elle avait une avance staturale à + 3DS, une macrocranie à + 2DS, et une dysmorphie faciale faite de bosses frontales, narines hypoplasiques, des yeux en orientation antimongoloïde, et des oreilles bas implantées.

L'IRM cérébrale a montré une atrophie corticale frontale bilatérale et une dilatation ventriculaire modérée. L'EEG a montré un tracé de veille, avec absence d'activité de fond individualisable. Le caryotype sanguin et la FISH à la recherche du syndrome d'Angelman se sont avérés normaux. L'analyse par CGH array a permis de mettre en évidence une délétion de 1,45 Mb en 19p13.2p13.12 emportant environ 44 gènes RefSeq, dont 7 gènes sont impliqués dans diverses pathologies (NFIX, CACNA1A, MAN2B1, RNASEH2A, KLF1, GCDH et CC2D1A). L'absence de ce remaniement chez les parents nous a permis d'affirmer le caractère de novo de cette délétion.

Cinq cas de délétion 19p13 ont été décrits, emportant plusieurs gènes, avec une région commune de 359 kb incluant trois gènes (SYCE2, NFIX et CACNA1A). Chez les cinq patients décrits, le phénotype comportait une dysmorphie faciale, une avance staturale, une hypoacousie, un retard psychomoteur et des crises d'épilepsie.

Le gène NFIX joue un rôle essentiel dans le développement du cerveau, le squelette et la régulation de la croissance. Des mutations hétérozygotes de ce gène ou sa délétion à l'état hétérozygote donnent des tableaux cliniques avec une avance staturale. Les mutations du gène CACNA1A ont été rapportées comme associées à l'épilepsie et la déficience mentale. Les 5 autres gènes délétés chez notre patiente (MAN2B1, RNASEH2A, KLF1, GCDH et CC2D1A), n'ont pas été décrits comme associés directement à des syndromes d'avance staturale ou de retard psychomoteur.

L'identification de ce nouveau cas de délétion 19q13 s'ajoute aux rares cas décrits antérieurement et permet de mieux décrire la corrélation phénotype génotype de cette délétion et de confirmer l'implication des gènes NFIX et CACNA1A dans cette pathologie.

**Mots-clés :** délétion 19p13.2p13.12, CGH array, avance staturale anomalies congénitales multiples

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A093/#481

### Mosaïque 45,X/46,X,der(Y)t(Y;17)(p11.3;q24.2) chez un garçon avec retard des acquisitions et signes autistiques.

Perrine Pennamen (1), Audrey Basinko (1), Marie-Josée Le Bris (1), Philippe Parent (2), Tiffany Busa (3), Chantal Missirian (4), Anne Moncla (4), Sylvia Redon (5), Claude Ferec (5), Frédéric Morel (1), Nathalie Douet-Guilbert (1), Marc De Braekeleer (1)

1. Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHRU Brest, Brest, France

2. Service de Pédiatrie et de Génétique Médicale, CHRU Brest, Brest, France

3. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Timone enfants, Marseille, France

4. Service de Génétique Médicale, Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Timone enfants, Marseille, France

5. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU Brest, Brest, France

**Auteur correspondant :** Douet-Guilbert Nathalie (nathalie.douet-guilbert@chu-brest.fr)

Les mosaïques 45,X/46,XY sont rares et le phénotype est variable notamment au niveau du déterminisme sexuel et de la taille. La duplication 17qter est associée à un phénotype reconnu associant déficit intellectuel, microcéphalie, petite taille et dysmorphie. Nous rapportons le cas d'un garçon avec anomalies du phénotype porteur d'une mosaïque mos 45,X/46,X,der(Y)t(Y;17)(p11.3;q24.2) de novo.

Le patient est le 4ème enfant d'un couple non apparenté sans antécédent familial, né à 37SA avec un poids de 2,5kg, une microcéphalie et des troubles de l'alimentation. A 24 mois, une dysmorphie faciale, un retard des acquisitions, des signes autistiques, et une myopie sévère sont observés. L'examen des organes génitaux externes ne retrouve pas d'hypospadias ou de cryptorchidie. Une IRM cérébrale ne montre pas d'anomalie spécifique.

Une étude en cytogénétique conventionnelle (RHG) à partir d'un prélèvement sanguin puis d'une biopsie de peau a été réalisée. L'étude en FISH avec des sondes centromériques des chromosomes X et Y (Abbott\*, Rungis, France) a été effectuée. Des investigations complémentaires avec la FISH 24 couleurs (MetaSystems\*, Altusheim, Allemagne), un panel de sondes spécifiques des chromosomes Y et 17 (MetaSystems\*, Abbott\*), et une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) (Agilent\*, Les Ulis, France) ont été réalisées.

Le caryotype standard sur lymphocytes T et sur fibroblastes met en évidence deux populations cellulaires : l'une à 45 chromosomes avec monosomie X (95% des lymphocytes, 45% des fibroblastes), l'autre à 46 chromosomes (5% des lymphocytes, 55% des fibroblastes) avec un chromosome Y de structure anormale. Sur sang, l'ACPA retrouve uniquement la population avec monosomie X. L'étude en FISH révèle un dérivé de chromosome Y issu d'une translocation entre l'extrémité distale du bras court du chromosome Y et la région terminale du bras long d'un chromosome 17. L'ACPA sur fibroblastes confirme une mosaïque à environ 50%, ainsi qu'une duplication de 14,5Mb allant de 17q24.2 à 17qter.

Les patients porteurs d'une mosaïque 45,X/46,XY présentent une hétérogénéité clinique liée en particulier au mosaïcisme tissulaire. Nous rapportons le premier cas d'un patient de sexe masculin avec une population 45,X et une autre population avec une anomalie de structure du chromosome Y induisant une trisomie partielle 17qter. Dans la littérature, les patients porteurs de duplication 17qter présentent un retard des acquisitions et des caractéristiques morphologiques similaires à celles de notre patient. Etant donné l'existence d'une mosaïque 45,X/46,X,der(Y), une surveillance cardiaque, endocrinologique et urologique du fait du risque de gonadoblastome sont nécessaires.

Ce cas souligne l'importance de la complémentarité des techniques d'étude chromosomique dans la détection d'une faible mosaïque sur sang et la caractérisation de l'anomalie.

1. Lindhardt Johansen et al. J Clin Endocrinol Metabol 2012
2. Kelly et al. Am J Med Genet 2002

**Mots-clefs :** Mosaïque, Monosomie X, Duplication 17qter

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A094/#485

### Syndrome d'Angelman par disomie uniparentale paternelle du chromosome 15 en mosaïque: diagnostic par SNP Array. Angelman Syndrome with mosaic paternal uniparental disomy of chromosome 15: diagnosis by SNP-Array.

Anne Bazin (1), Détlef Trost (2), Laurence Lohmann (1), Pascale Kleinfinger (1), Martine Franc (3)

1. Département de Génétique, Laboratoire Cerba, St Ouen l'Aumone, France
2. Département de Génétique, Laboratoire Cerba, St ouen l'Aumone, France
3. Service de Pédiatrie Ambulatoire, Centre Hospitalier, Agen, France

**Auteur correspondant :** Bazin Anne (abazin@pasteur-cerba.com)

#### Observation clinique

Nous rapportons l'observation d'une fillette de 8 ans, atteinte de déficience intellectuelle avec retard psycho-moteur. L'histoire familiale est sans particularité, il n'y a pas de consanguinité. Le caryotype sur lymphocytes périphériques en Bandes RHG est normal, la recherche de micro-délétion 22q11.2 et de mutation responsable du syndrome de l'X-Fragile sont négatives. Une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) par SNP Array (CYTOSCAN HD AFFYMETRIX) ne montre pas de variations de nombre de copies pathogènes mais met en évidence une disomie uniparentale complète du chromosome 15 en mosaïque de l'ordre de 40-50 %. Une étude de la ségrégation de microsatellites répartis sur le chromosome 15 est réalisée : quatre marqueurs informatifs montrent la présence d'un allèle maternel et d'un allèle paternel avec un déséquilibre en faveur de l'allèle paternel. Une HIS sur lymphocytes périphériques avec la sonde alpha-satellite du chromosome 15 (D15Z4 VYSIS) sur 100 mitoses et 100 noyaux élimine une trisomie 15 en mosaïque faible qui aurait pu ne pas être dépistée par la SNP Array. Par contre, l'analyse de la méthylation du locus SNRPN par méthyl-spécifique PCR en temps réel (MS-PCR) ne montre pas d'anomalie.

Ces résultats sont compatibles avec le diagnostic de Syndrome d'Angelman par disomie parentale paternelle en mosaïque du chromosome 15.

#### Discussion

Nous discutons les mécanismes chromosomiques d'apparition d'une disomie uniparentale du chromosome 15 en mosaïque. Cette observation confirme l'intérêt de la technique SNP Array dans le diagnostic étiologique de la déficience intellectuelle non expliquée.

#### Références

- Mol Syndromol. 2012 Apr;2(3-5):100-112. Epub 2011 Jul 28.  
Molecular and Clinical Aspects of Angelman Syndrome.  
Dagli A, Buiting K, Williams CA.  
Am J Med Genet A. 2013 Jan;161A(1):166-71. doi: 10.1002/ajmg.a.35625. Epub 2012 Dec 7.  
Mosaic maternal uniparental disomy of chromosome 15 in Prader-Willi syndrome: utility of genome-wide SNP array.  
Izumi K, Santani AB, Deardorff MA, Feret HA, Tischler T, Thiel BD, Mulchandani S, Stolle CA, Spinner NB, Zackai EH, Conlin LK.  
J Inherit Metab Dis. 2009 Dec;32 Suppl 1:S349-53. doi: 10.1007/s10545-009-9014-9. Epub 2009 Dec 23.  
Tyrosinemia type 1 and Angelman syndrome due to paternal uniparental isodisomy 15.  
Ferrer-Bolufer I, Dalmau J, Quiroga R, Oltra S, Orellana C, Monfort S, Roselló M, De La Osa A, Martinez F.  
Hum Mol Genet. 2004 Nov 1;13(21):2547-55. Epub 2004 Sep 22.  
Somatic mosaicism in patients with Angelman syndrome and an imprinting defect. Nazlican H, Zeschnick M, Claussen U, Michel S, Boehringer S, Gillissen-Kaesbach G, Buiting K, Horsthemke B.

**Mots-clefs :** Syndrome d'Angelman, disomie uniparentale en mosaïque, SNP-Array

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A095/#492

### Déficit immunitaire, surdité (et infertilité masculine) : un nouveau syndrome ou une association fortuite ?

Florence Niel-Bütschi (1), Marco Belfiore (2), Guillaume Buss (3), Isabelle Mejia (1), Florence Fellmann (1)

1. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse
2. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, CHUV, Suisse
3. Service d'Immunologie et allergie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse

**Auteur correspondant :** Niel-Bütschi Florence (niel.florence@yahoo.fr)

Nous rapportons le cas d'un homme âgé de 41 ans, issu d'un couple suisse non consanguin et parent d'un enfant en bonne santé habituelle, présentant un déficit immunitaire commun variable (DICV) associée à une surdité bilatérale probablement congénitale. Son déficit immunitaire touche principalement l'immunité humorale avec un effondrement de toutes les classes d'immunoglobulines (agammaglobulinémie) et une absence de réponse vaccinale, à l'origine d'infections bactériennes récidivantes décrites depuis la jeune enfance (pneumonies à pneumocoques, otites moyennes et sinusites à répétition). Le diagnostic de DICV est posé à l'âge de 13 ans. Un traitement de substitution par gammaglobulines administrées par voie intraveineuse est instauré. Le patient est connu pour une maladie cœliaque diagnostiquée dans la première année de vie, très probablement secondaire au problème d'immunodéficience. Dans ce contexte de surdité pré-linguale, une mutation dans le gène GJB2 codant la connexine 26 a été exclue. L'analyse par puce à ADN (Agilent® 1M) à la recherche d'une cause à cette présentation clinique complexe a mis en évidence une délétion homozygote de la région 15q15.3 (chr15: 43'888'927 bp à 43'936'347 bp, GRCh37) d'une taille minimale de 47 kb (maximale 138 kb). Cette délétion emporte un groupe de trois gènes : les gènes OMIM CKMT1B (MIM 123290) et CATSPER2 (MIM 607249), ainsi que le gène OMIM morbide STRC (MIM 606440). La délétion homozygote du gène STRC codant la stéréociline explique la surdité sensorielle, et celle du gène CATSPER2 (cation channel, sperm-associated 2) est responsable d'une infertilité masculine. Il apparaît alors que le patient et sa conjointe malentendante ont bénéficié d'une FIV avec ICSI en raison d'une infertilité avec anomalie du spermogramme (oligozoospermie sévère, asthénozoospermie modérée et tétrazoospermie sévère). Le syndrome de surdité-infertilité est un syndrome très rare décrit dans moins de 10 familles. Au vu de l'anamnèse familiale il apparaît très probable que le frère du patient âgé de 44 ans atteint de surdité et sans enfant soit porteur du même génotype. Le déficit immunitaire présent chez notre patient apparaît donc être une association fortuite au syndrome de surdité-infertilité, non expliqué par la délétion homozygote. La revue de la littérature rapporte à ce jour que 20% des cas de DICV seraient familiaux à transmission autosomique dominante (80%) ou autosomique récessive (20%). En l'état actuel, le patient a été inclus dans un protocole de recherche incluant une analyse moléculaire de plusieurs gènes (panel de gènes impliqués dans la DICV), un phénotypage des sous-populations de cellules B et une étude du profil fonctionnel des lymphocytes T CD4.

Ce cas est une illustration de l'intérêt de l'analyse par array-CGH préalablement au séquençage de l'exome, qui n'aurait sans doute pas détecté la délétion homozygote.

**Mots-clefs :** Déficit immunitaire, surdité bilatérale, array-CGH

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A096/#505

### Quand le mosaïcisme chromosomique reste inapparent ou disparaît : deux observations

Elise Brischoux-Boucher (1), Juliette Piard (2), Christelle Cabrol (2), Jean-Luc Bresson (1), Philippe Lochu (3), James Lespinasse (4), Alain-Norbert Khayat (5), Lionel Van Maldergem (2)

1. Service de Génétique Biologique Histologie Biologie du Développement et de la Reproduction, CHU, Besançon, France
2. Centre de Génétique Humaine, CHU, Besançon, France
3. Service de Génétique, GENBIO, Clermont-Ferrand, France
4. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CH, Chambéry, France
5. Réseau Epilepsies de l'Enfant en Franche-Comté, CHU, Besançon, France

**Auteur correspondant :** Brischoux-Boucher Elise (elisebrischoux@hotmail.fr)

Le phénotype du syndrome de Down compte parmi les mieux connus des généticiens et échappe rarement au diagnostic clinique. Cela ne s'applique pas aux cas de mosaïcisme. Nous rapportons ici deux observations exceptionnelles. Le phénotype atténué d'un mosaïcisme ayant échappé à l'établissement du caryotype fœtal. La première échographie avait montré une clarté nucale épaisse justifiant la réalisation d'un caryotype sur PVC. La technique directe et la culture (16 mitoses) ont indiqué une formule 46, XY. Le caryotype lymphocytaire (culture et FISH) est effectué à 8 mois compte tenu de la survenue d'un syndrome de West : il retrouve une aneuploïdie 47, XY, +21 dans 12,5 % des mitoses et 20 % des noyaux interphasiques. Ce nourrisson présente un faciès modérément dysmorphique et une hypotonie sévère. Le phénotype atténué chez une jeune femme de 32 ans. Elle a été vue en consultation suite à une IMG d'un fœtus présentant une trisomie 21 libre et homogène. Elle présente une déficience intellectuelle légère et un faciès non dysmorphique. Elle-même était dite trisomique en mosaïque à la naissance (34% de cellules 47, XX, +21 sur lymphocytes). Le contrôle du caryotype à l'âge adulte ne retrouve plus la mosaïque aneuploïde. En FISH interphasique, 95 % des noyaux sont normaux (46, XX), 4 % des noyaux sont monosomiques (45, XX, -21) et 1 % des noyaux est trisomique (47, XX, +21). Les 16 mitoses analysées après culture sont normales. La trisomie 21 en mosaïque est rare : 3,5 % des cas d'après Devlin et Morrison. Deux concepts concernant le mosaïcisme chromosomique au sens large continuent d'alimenter la controverse : celui du phénotype atténué en terme de déficit intellectuel et celui de l'avantage sélectif des cellules à caryotype normal. Notre patiente fournit d'indéniables arguments pour conforter l'un et l'autre. L'absence d'éléments dysmorphiques et son autonomie à l'âge adulte sont virtuellement impossibles à observer chez des patients non-mosaïques trisomiques 21. Dans la mesure où c'est le même tissu (lymphocytaire) qui a été étudié à la naissance et à 32 ans, seule une régression de la lignée trisomique peut être mise en avant pour expliquer ces résultats. Il s'agit d'un phénomène habituel déjà décrit dans les années 70 par Mikkelsen, mais c'est une diminution, et non une disparition qui était observée. D'autres tissus de notre patiente sont en cours d'examen. La mosaïque placentaire cryptique de notre patient pose elle aussi question. La situation habituelle de discordance entre le caryotype fœtal sur PVC et celui sur amniocytes ou lymphocytes est inverse : aberration chromosomique initiale, non retrouvée ultérieurement. Cela est particulièrement vrai lorsqu'il n'existe pas de signe d'appel échographique. En revanche, l'inverse est (heureusement) rare, voire exceptionnel. Ce diagnostic manqué pose la question de l'indication éventuelle d'une amniocentèse confirmatoire en cas de caryotype normal sur PVC avec signe d'appel.

**Mots-clefs :** trisomie 21, mosaïque chromosomique, phénotype atténué

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A097/#517

### Apport de l'ACPA dans l'identification d'un nouveau mécanisme moléculaire du syndrome de Rieger

Ikhlas Ben Ayed (1), Laila EL Khattabi (2), Laurence Perrin (3), Christine loos (4), Dominique Le Tessier (5), Aziza Lebbar (5), Jean-Michel Dupont (6)

1. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, France, Paris, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, France., Paris, France
3. :Unité fonctionnelle de Génétique Clinique, CHU ROBERT DEBRE, Paris, France
4. Unité fonctionnelle de Médecine Physique et Réadaptation de l'enfant, Hôpitaux Universitaires Paris Ouest, France., Paris, France
5. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, France, Paris, France
6. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre., Paris, France

**Auteur correspondant** : Ben Ayed Ikhlas (ikhlas.benayed@yahoo.com)

Le syndrome d'Axenfeld-Rieger (ARS) est un trouble de développement associant des anomalies oculaires et des malformations congénitales multiples. Les atteintes oculaires résultent d'anomalies de migration des cellules des crêtes neurales, et correspondent à une dysgénésie du segment antérieur de l'œil. Les atteintes extra-oculaires les plus typiques sont une dysmorphie craniofaciale discrète, des anomalies dentaires et une peau péri-ombilicale redondante. Ce syndrome est transmis selon un mode autosomique dominant avec forte pénétrance. Il est dû à des mutations des gènes FOXC1 et PITX2 localisés respectivement sur les chromosomes 6p25 et 4q25. Dans plus de 50% il n'y a pas d'anomalie génétique connue et le diagnostic repose sur la clinique.

Dans ce travail, nous rapportons un syndrome de Rieger associé à une épilepsie chez un petit garçon âgé de 18 mois. L'examen clinique trouve quelques traits dysmorphiques, un poids et une taille à -3DS. L'examen ophtalmologique met en évidence une atteinte de Rieger avec une corectopie bilatérale, un iris immature et un embryotoxon bilatéral.

L'ACPA (Nimblegen, 135K- Hg 18) a révélé une délétion de 4,55 Mb de novo en 4q25-26 (chr4 :112, 009,675-116, 558,399). Cette délétion est située à 230 Kb en amont du gène PITX2 et emporte 9 gènes OMIM. Les études in silico ont permis d'identifier, la présence de séquences régulatrices de PITX2 s'étendant sur 1 Mb à distance du gène (chr4:111, 834,455- 112, 669,915). Pour notre patient, la délétion emporte 7 de ces éléments régulateurs de PITX2 et la PCR quantitative a permis de vérifier la délétion du premier élément emporté par ce réarrangement.

Ainsi, nous rapportons un nouveau cas du syndrome de Rieger causé par une délétion des éléments régulateurs du gène PITX2 permettant d'étayer l'hypothèse d'un nouveau mécanisme moléculaire à l'origine de ce syndrome.

**Mots-clefs** : Syndrome de Rieger, ACPA, effet de position

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A098/#520

### Un chromosome isodicentrique idic(X)(q22.1) chez une femme présentant un retard mental syndromique : implication phénotypique?

Ikhlas Ben Ayed (1), Fatma Abdelhedi (2), Aziza Lebbar (3), Nourhene Gharbi (2), Pascale Auvinet (3), Houda BEN Othmen (4), Chahnez Triki (4), Neila Belghuith (2), Hassen Kamoun (2), Jean-Michel Dupont (5)

1. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, France, Paris, France
2. Service de Génétique, Centre Hospitalo-Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, France, Paris, France
4. Service de Neuro Pédiatrie, Centre Hospitalo-Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
5. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre., Paris, France

**Auteur correspondant** : Ben Ayed Ikhlas (ikhlas.benayed@yahoo.com)

Les chromosomes isodicentriques Xq avec une délétion partielle du bras long du chromosome X sont des anomalies de structure rares, souvent en mosaïque. Dans la littérature, une vingtaine de cas ont été rapportés avec des points de cassure non récurrents, s'étendant de Xq21.2 à Xq28. Ils sont souvent diagnostiqués devant des troubles de la fertilité auxquels s'associent parfois des stigmates de syndrome de Turner.

Nous rapportons l'observation d'une patiente de 50 ans qui présente un phénotype de Turner incluant une petite taille et une aménorrhée primaire. Elle présente, par ailleurs, un retard mental et une épilepsie évoluant depuis l'âge de 7ans. Le caryotype standard en bandes G a mis en évidence la présence homogène d'un chromosome X remanié. L'étude par FISH a montré qu'il s'agit d'un chromosome isodicentrique Xq avec un point de cassure localisé entre Xq21.23 et Xq23. Habituellement, on n'observe pas de retard mental chez les patientes présentant des remaniements chromosomique du chromosome X lorsque le locus XIST est conservé, du fait d'une inactivation préférentielle de l'X remanié. Devant cette discordance, une ACPA (Agilent, 8x60K- Hg19) a été réalisée, elle n'a pas retrouvé de CNVs pathogènes pouvant expliquer le phénotype de notre patiente et a permis d'affiner le point de cassure de l'isochromosome. L'étude de l'inactivation de l'X permettra de prédire l'implication de ce remaniement dans le phénotype de notre patiente.

**Mots-clefs** : chromosome isodicentrique Xq22.1, Retard mental, Inactivation de l'X



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A099/#522

### Étude de ségrégation d'une inversion familiale péricentrique du chromosome 4

L Kraoua (1), M Bouksila (1), M Chaabouni (1), I Ouertani (1), M Bel Hiba (1), H Safrrou (1), D Chelly (2), L Ben Jemaa (1), F Maazoul (1), H Chaabouni (1)

1. Service des Maladies Congénitales et Hérititaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

2. Service de Gynécologie Obstétrique A, Centre de Maternité et de Néonatalogie La Rabta, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Kraoua Lilia (Kraoua\_lilia@yahoo.fr)

L'inversion péricentrique du chromosome 4 impliquant les points de cassures p13-p15 et q35 est à l'origine de deux types de recombinants du chromosome 4 [rec(4)]. Environ 80% des recombinants viables correspondent à une duplication partielle 4p et une délétion partielle 4q. A ce jour, seulement 11 cas de rec(4) dup 4p ont été décrits.

Nous rapportons l'étude de ségrégation d'une inversion péricentrique du chromosome 4 [inv(4)(p14q35)] à travers trois générations. L'inv(4) est portée par les deux membres d'un couple de cousins germains (I-1 et I-2). L'étude cytogénétique de leur descendance a montré la présence de différents types d'anomalies du chromosome 4 : une inv(4)(p14q35) à l'état hétérozygote chez deux filles (II-4 et II-6), et présence concomitante des deux types de rec(4) (duplication partielle 4p/ délétion partielle 4q et délétion partielle 4p/duplication partielle 4q) chez un fils (II-1) et une fille (II-5). Le caryotype du fils (II-3), ayant un retard mental et une dysmorphie faciale n'avait cependant pas montré d'anomalie chromosomique.

L'inversion du chromosome 4 était découverte suite à la réalisation initiale du caryotype du fœtus (III-1) devant une clarté nucale >3mm. Il s'agit du premier fœtus du sujet II-1 porteur des deux types de recombinants du 4. Le caryotype fœtal avait montré une duplication partielle 4p/délétion partielle 4q héritée du père. Le risque de récurrence d'anomalie chromosomique du 4 était estimé à 100% pour ce couple. Cependant, le suivi des grossesses ultérieures a montré chez le 2ème et le 4ème fœtus (III-2 et III-4) la présence d'un autre type d'anomalie du chromosome 4 apparemment équilibrée: il s'agit d'un chromosome 4 ayant l'aspect d'une inv(4) sur le caryotype. Ce type d'anomalie serait le produit d'une recombinaison méiotique paternelle entre les deux chromosomes 4 recombinants. Les enfants III-2 (4ans) et III-4 (4 mois) sont bien portants. Le caryotype du fœtus III-3 avait montré la même anomalie que le cas index III-1.

Madame II-6 ayant une inv(4) hétérozygote a eu une fille (III-5), présentant un rec(4) avec duplication partielle 4p/délétion partielle 4q. Il s'agit du 12ème cas de rec(4)dup 4p rapporté. Notre patiente présente les signes caractéristiques de ce syndrome à savoir une microcéphalie, une dysmorphie faciale évocatrice et un retard psychomoteur sans retard de croissance ni malformation cardiaque.

L'étude par FISH des régions subtélomériques du chromosome 4 a permis de mieux caractériser ces différentes anomalies.

En conclusion, il s'agit d'un cas rare de transmission d'une inversion du chromosome 4 à travers trois générations avec différents recombinants observés. Un complément d'étude par CGH serait d'un grand intérêt pour la caractérisation des points de cassure chez la patiente III-5 porteuse d'un rec(4) dup 4p et la mise en évidence d'un microremaniement chez le fils II-5 ayant un retard mental sans anomalie chromosomique identifiable au caryotype.

**Mots-clés :** inversion péricentrique, Chromosome 4 recombinant, Ségrégation

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A100/#532

### Réarrangements intragéniques dans la déficience intellectuelle liée au chromosome X : résultats d'une étude en CGH-array haute résolution sur une série de 54 patients et identification de KLHL15 et TRPC5 comme gène candidats.

Cecile Mignon-Ravix (1), Pierre Cacciagli (2), Chantal Missirian (3), Nancy Choucair (4), Tiffany Busa (5), Sabine Sigaudy (6), Sophie Julia (7), Nadine Girard (8), Brigitte Chabrol (9), André Magarbané (4), Catherine Badens (10), Laurent Villard (11), Nicole Philip (12)

1. UMR\_S910 INSERM, Faculté de médecine de la Timone, Marseille, France

2. UMR\_S910, Inserm, Faculté de médecine de la Timone, Marseille, France

3. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France

4. Unité de Génétique Médicale et Laboratoire Associé INSERM à l'Unité UMR\_S 910, Université Saint-Joseph, Beirut, Liban

5. Centre de Référence Anomalies du Développement et Unité de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France

6. Centre de Référence Anomalies du Développement et Unité de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France

7. Service de génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France

8. Service de neuroradiologie, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France

9. Service de Neurologie pédiatrique, Hopital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France

10. Unité de génétique moléculaire, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France

11. UMR\_S910 INSERM, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

12. Centre de référence Anomalies du Développement et Unité de génétique clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Philip Nicole (nicole.philip2@wanadoo.fr)

L'utilisation de puces à ADN avec un haut niveau de résolution permet d'identifier des remaniements intragéniques qui ne sont pas détectés avec les puces diagnostiques standard. Nous avons fait fabriquer une puce dédiée de format 720K (Roche Nimblegen) spécifique au chromosome X et offrant une résolution de 50bp dans les régions codantes et de 20kb en dehors de ces régions. Nous avons utilisé ces puces pour étudier l'ADN d'une série de 54 patients de sexe masculin présentant une déficience intellectuelle (DI) et une histoire familiale évocatrice de transmission liée au chromosome X et/ou un biais d'inactivation du chromosome X chez la mère. La majorité de ces patients avait bénéficié d'une ACPA avec une puce de 44K ou 80K. Nous avons identifié 4 remaniements que nous considérons comme pathogènes ou potentiellement pathogènes, soit un taux de 8% (après avoir exclu les grands remaniements tels que les duplications du gène MeCP2 et du gène FMR1). Les deux remaniements qui sont certainement impliqués dans le phénotype des patients étudiés sont : une délétion de 3 exons (3-5) du gène IL1IRAPL et une délétion de 3 exons (13-15) du gène OPHN1. Ces deux patients présentent un phénotype compatible avec celui connu pour être associé aux mutations de ces deux gènes. Les deux autres remaniements, potentiellement pathogènes, concernent deux gènes candidats dont l'expression et la fonction sont compatibles avec une implication dans la déficience intellectuelle. Le premier remaniement est une délétion du premier exon du gène TRPC5 chez un enfant présentant une DI dans un contexte de troubles autistiques et du comportement. TRPC5 code pour un Transient Receptor Potential Cation channel exprimé de manière prédominante dans le cerveau fœtal et adulte et impliqué dans la croissance des dendrites et l'organisation du système nerveux central. Le second remaniement provoque la délétion des 3 premiers exons du gène KLHL15 chez un enfant avec une DI sévère, une épilepsie et des anomalies de la gyration. Ce gène code pour une

protein Kelch-like qui régule la sous-unité cerveau-spécifique de PP2A, une serine-threonine phosphatase majeure. Dans les deux cas, le gène concerné par le remaniement n'est pas exprimé dans les lymphocytes et nous n'avons pas pu étudier l'expression des transcrits chez les patients. De plus, nous n'avons pas pu avoir accès aux prélèvements d'autres individus apparentés de sexe masculin, sains ou atteints. En l'absence d'arguments fonctionnels ou tirés de la ségrégation familiale, nous n'avons pas pu utiliser cette information pour le conseil génétique. L'identification d'anomalies de ces deux gènes chez d'autres patients pourrait contribuer à préciser leur rôle dans l'étiologie de la déficience intellectuelle liée au chromosome X.

**Mots-clefs :** Déficience intellectuelle liée au chromosome X, TRPC5, KLHL15

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A101/#533

### Syndromes dysmorphiques : le caryotype garde-t-il toujours sa place ?

Ghizlane Jabrane, Hind Dehbi, Sanaa Nasserredine, Nadia Serbati, Sellama Nadi

Laboratoire de génétique et pathologie moléculaire, CHU Ibn Rochd, Casablanca

**Auteur correspondant :** Jabrane Ghizlane (ghizlane.jabrane@gmail.com)

Le développement important et incessant des techniques de cytogénétique et de biologie moléculaire a permis de mieux comprendre les bases moléculaires de plusieurs syndromes dysmorphiques, occupant ainsi la place des techniques conventionnelles comme le caryotype. Cependant, ce dernier garde son intérêt notamment dans le diagnostic des anomalies chromosomiques. Nous rapportons dans ce travail, le cas d'un nourrisson de 11 mois avec une forte suspicion clinique de syndrome de Beckwith Wiedemann fait d'une macroglossie et d'une hémihyperplasie sans retard psychomoteur, et chez qui le caryotype standard demandé de façon systématique a révélé un syndrome de Turner avec isochromosome X dont aucun signe clinique ne le reflétait. Actuellement, et malgré l'envahissement de nouvelles techniques, le caryotype reste un outil de base indispensables au diagnostic des syndromes dysmorphiques.

**Mots-clefs :** caryotype, syndrome dysmorphique, anomalie chromosomique

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A102/#566

### Corrélation génotype-phénotype de patients présentant une déficience intellectuelle et porteurs de microremaniements du gène CNTNAP2.

Loïc Drévilion (1), Corrine Metay (1), Lucie Tosca (1), Audrey Briand - Suleau (2), Narjes Guediche - Armanet (1), Valérie Ortonne (3), Dominique Pineau (1), Virginie Vast (1), Daniel Amram (4), Christine Muti (5), Sophie Brisset (1), Michel Goossens (3), Gérard Tachdjian (1), Irina Giurgea (3)

1. Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, AP-HP Groupe hospitalier Paris Sud – Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
2. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, AP-HP Hôpital Cochin, Paris, France
3. Service de Biochimie et Génétique, AP-HP Groupe hospitalier Henri-Mondor, Créteil, France
4. UF de Génétique Clinique, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
5. Service de Cardiologie, AP-HP Hôpital Bichat, Paris, France

**Auteur correspondant :** Drévilion Loïc (loic.drevillon@abc.aphp.fr)

Les origines génétiques des troubles neurologiques responsables d'autisme, de déficience intellectuelle (DI) et de retard du langage sont complexes et encore mal comprises. L'identification et la caractérisation des causes moléculaires responsables de ces troubles et leur corrélation avec le phénotype des patients est essentielle au diagnostic de ces syndromes.

L'un des gènes impliqué dans un large spectre de troubles neurologiques est CNTNAP2, codant pour la Contactin-associated protein-like 2, aussi appelée CASPR2 ou NRXN4 (Neurexin4). Elle appartient à la famille des neurexines, regroupant des protéines transmembranaires pré-synaptiques engagées dans l'adhésion inter-neuronale. Le gène CNTNAP2 a été impliqué dans une forme récessive de déficience intellectuelle apparentée au syndrome de Pitt-Hopkins. Des études de cohortes ont associé TCF4 à des troubles autistiques, à la schizophrénie ou à des troubles du langage.

Notre objectif est de mieux caractériser le phénotype de patients portant des anomalies du gène CNTNAP2 afin d'établir une corrélation génotype - phénotype. Dans notre cohorte de 1050 patients avec DI étudiées par CGH array (105K et 180K, Agilent), nous avons identifié trois patients porteurs d'une délétion emportant une partie ou la totalité du gène CNTNAP2. Une patiente avec une DI, une épilepsie, une dysmorphie et une hypertrichose présentait une grande délétion de novo de 4,3 Mb emportant 60 gènes dont CNTNAP2. Les deux autres patients présentaient, l'un un autisme sévère et l'autre un retard psychomoteur et staturé-pondéral. Ils présentaient des délétions de plus petite taille, la première de novo, de 101 Kb située dans l'intron 1 et la seconde héritée, de 368 Kb emportant les exons 2 à 4 de CNTNAP2. Afin d'identifier un deuxième événement moléculaire dans ce gène son séquençage est cours. Des tests fonctionnels devront être effectués pour évaluer au niveau cellulaire ou de l'ARNm l'impact des anomalies moléculaires identifiées.

Cette étude devrait permettre de mieux caractériser les anomalies moléculaires du gène CNTNAP2 en les corrélant avec la variabilité phénotypique afin d'expliquer l'hétérogénéité des signes cliniques de patients.

**Mots-clefs :** déficience intellectuelle, microremaniements, CNTNAP2

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A103/#569

Cette observation suggère de séquencer le gène SHANK3 chez les sujets présentant une catatonie à l'adolescence et ayant une histoire de trouble de développement.

**Mots-clefs** : délétion 22q13.3, shank3, catatonie

### Syndrome catatonique chez une adolescente porteuse d'une délétion partielle de SHANK3 : comorbidité ou expression phénotypique liée à l'âge ?

Anne Philippe (1), Camille Benoit (2), Jean Xavier (2), Marianna Giannitelli (2), Valérie Malan (1), Isabelle An (3), Laurence Colleaux (1), Angèle Consoli (4), Claudine Laurent (2), Arnold Munnich (1), David Cohen (2)

1. INSERM U781 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Département de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service d'épileptologie, Centre de références des épilepsies rares, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Centre Référent Maladies Rares à Expression Psychiatrique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant** : PHILIPPE Anne (anne.philippe@inserm.fr)

La catatonie est un syndrome clinique transnosographique pouvant accompagner diverses affections : psychiatriques (schizophrénie, trouble envahissant du développement), neurologiques (encéphalite auto-immunes à anticorps anti-récepteurs-NMDA), médicales ou toxiques. Ce syndrome associe des manifestations motrices (maintien de postures, raideur musculaire, akinésie), comportementales (négativisme, échopraxie), affectives (labilité émotionnelle, ambivalence) et des perturbations du système nerveux autonome.

Des symptômes catatoniques ont été rapportés chez des patients porteurs d'une délétion 22q13.3: état catatonique chez une patiente de 19 ans, survenu après un surdosage de benzodiazépines prescrit pour trouble bipolaire à cycle rapide (3), épisodes d'immobilité durant plusieurs minutes avec une expression faciale figée chez deux frères (6).

Nous rapportons l'observation d'un syndrome catatonique chez une adolescente ayant une déficience intellectuelle modérée et porteuse d'une délétion interstitielle 22q13.

A l'âge de 16 ans, elle présente pendant plusieurs jours un état d'agitation avec logorrhée et exaltation de l'humeur, suivi pendant trois mois de périodes fluctuantes d'apathie, de mutisme, de négativisme, de perplexité, d'écholalie et d'échopraxie. Elle est hospitalisée devant la sévérité de la détérioration clinique (incontinence, perte d'autonomie) et le diagnostic de catatonie est confirmé. L'anamnèse retrouve dans les 2 années précédant l'hospitalisation, quelques épisodes d'inertie d'une à deux semaines avec un ralentissement des gestes et une augmentation importante du temps de latence pour répondre aux sollicitations extérieures.

Plusieurs publications ont rapporté chez des patients porteurs d'une délétion partielle et de mutations ponctuelles du gène SHANK3, des régressions sévères à l'adolescence sur le plan du langage, de l'autonomie et des fonctions instinctuelles aboutissant dans certains cas au décès (1, 5, 7, 8). Certains de ces symptômes (négativisme, apathie, postures étranges) évoquent une symptomatologie catatonique qui peut n'avoir pas été diagnostiquée en l'absence d'examen clinique standardisé, en particulier pour les formes chroniques (2).

La délétion interstitielle 22q13.3 de 55,9 Kb chez cette patiente emporte les 15 derniers exons de SHANK3. Ce gène code pour une protéine d'assemblage qui intervient dans la structure de la membrane post-synaptique des synapses glutamatergiques. Cela suggère un dysfonctionnement des récepteurs au glutamate de type NMDA dans la symptomatologie présentée par cette patiente, d'autant que des antagonistes du récepteur NMDA (mémantine) sont prescrits dans le traitement de la catatonie et qu'un hypofonctionnement des récepteurs NMDA a été mis en évidence in vitro dans les cellules déficientes en SHANK3 par ARN interférence (4).

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A104/#574

### Délétion 11q14.1q21 : une nouvelle forme familiale avec expression parentale

Emeline RENARD (1), Céline BONNET (2), Laetitia LAMBERT (1), Mylène DEXHEIMER (2), Alexia BURTIN (1), Philippe JONVEAUX (2), Bruno LEHEUP (1)

1. CLAD Est Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHU de Nancy, VANDOEUVRE LES NANCY, France  
2. CLAD Est Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy, VANDOEUVRE LES NANCY, France

**Auteur correspondant :** LEHEUP Bruno (b.leheup@chu-nancy.fr)

Les formes familiales de délétions chromosomiques interstitielles de la région 11q14q21 du chromosome 11 sont peu nombreuses dans la littérature.

Nous rapportons une observation familiale de déficience intellectuelle avec troubles des apprentissages chez 2 filles et leur père associée à une délétion interstitielle 11q14.1q21 découverte par analyse chromosomique microréseau (ACM).

- Première fille née en 2001 : hypotonie notée les premiers mois de vie avec une tenue de tête acquise à 4 mois, la tenue assise à 10 mois et la marche seule à 3 ans, premiers mots apparus après 2 ans avec langage pauvre et écholalie transitoire. La croissance est à la médiane pour la taille et le périmètre crânien. Au plan morphologique : ptosis gauche, synophrys, discret rétrognathisme et oreilles discrètement basses implantées. Au plan scolaire troubles des apprentissages avec difficultés scolaires motivant une scolarité adaptée (6ème SEGPA avec SESSAD)

- Deuxième fille née en 2007 : retard des acquisitions avec expression verbale difficile, communication non verbale pauvre. La croissance staturo-pondérale et du PC normale. Il n'y a pas d'éléments dysmorphiques. L'évaluation psychocognitive (WPPSI-III) donne un QI performance à un niveau moyen-faible et un QI langage à un niveau intellectuel limite. La discordance entre les deux évaluations n'a pas permis le calcul du QI global.

- Le père rapporte des difficultés scolaires avec troubles des apprentissages. A l'âge de 52 ans : troubles de la mémoire d'apparition progressive associée à une asthénie et des vertiges. Le bilan est en cours en centre des troubles de la mémoire.

- La mère ne rapporte pas de notion de difficultés scolaires et est asymptomatique.

L'analyse génétique a été réalisée par ACM 180K (Agilent) avec contrôle des anomalies par qPCR et FISH. une délétion interstitielle 11q14.1q21 de 9.2Mb (chr11 :85,037,131- 94,243,722 [hg18] - chr11:85,359,483 -94,604,074[hg19]) est retrouvée chez le père et ses 2 filles.

Dans la base DECIPHER sont rapportées des formes transmises de délétions de taille variables de la même région transmise par un parent dans 5 cas dont 2 avec expression similaire chez le parent porteur.

En 2002 Li et ont rapporté une délétion plus petite de 3.6Mb 11q14.3-q21.1 chez 5 individus de sexe masculins de la même famille sur 3 générations. Le cas probant présentait une petite taille et des difficultés scolaires sans dysmorphie faciale associée. Les 4 autres individus ne présentaient pas d'anomalie phénotypique.

Les délétions de cette région semblent donc s'associer à une expression variable au sein des familles.

Notre observation doit conduire à mieux évaluer l'évolution des patients porteurs de ces délétions à l'âge adulte et sur le lien éventuel avec des troubles de la mémoire à un âge mur.

**Mots-clefs :** Analyse cyogénétique microréseau, forme familiale, déficience intellectuelle

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A105/#608

### Caractérisation moléculaire d'une trisomie 9p chez une fille ayant un retard mental syndromique.

Fatma Abdelhedi (1), Neila Belguith (1), Aziza Lebbar (2), Nourhène Gharbi (1), Ikhlas ben Ayed (1), Houda Ben Othmen (3), Chahnez Triki (3), Hassen kamoun (1), Jean-Michel Dupont (2)

1. Service de Génétique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie  
2. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, Paris, France  
3. service de Neuro-Pédiatrie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** ABDELHEDI Fatma (abdelhedi\_f@yahoo.fr)

La trisomie 9p ou la duplication du bras court du chromosome 9 est une anomalie de structure rare. Le phénotype clinique est très variable selon la taille et la localisation du segment chromosomique dupliqué. Les corrélations génotype-phénotype suggèrent que la région critique dupliquée et responsable des manifestations cliniques serait localisée en 9p22.

Nous rapportons le premier cas d'une trisomie 9p totale, non associée à une monosomie partielle d'un autre segment chromosomique, et secondaire à une translocation déséquilibrée de novo.

Il s'agit d'une fille âgée de trois ans, adressé pour exploration d'une déficience intellectuelle associée à une épilepsie et à une dysmorphie faciale. Le caryotype standard met en évidence du matériel excédentaire sur le bras long du chromosome 15. Les caryotypes parentaux sont normaux. L'hybridation in situ fluorescente (FISH) montre que le matériel excédentaire est originaire du bras p du chromosome 9. L'analyse chromosomique par puces à ADN (ACPA) confirme la duplication de tout le bras court du chromosome 9, et élimine la présence d'autres réarrangements chromosomiques.

La trisomie 9p totale résulte le plus souvent d'une ségrégation déséquilibrée de translocations équilibrées parentales entre le chromosome 9 et les acrocentriques. Par ailleurs très peu de cas de trisomie 9 p secondaires à des translocations déséquilibrées de novo ont été rapportés. Dans tous les cas la trisomie 9p est associée à une monosomie partielle d'un autre segment chromosomique. La trisomie 9p totale, pure, secondaire à une translocation déséquilibrée de novo, comme c'est le cas de notre patiente, n'a jamais été rapportée. Notre patiente a le syndrome dysmorphique ainsi que le retard mental, mais elle n'a ni des malformations viscérales, ni des signes autistiques. Notre observation permettra d'établir des corrélations génotype/phénotype vu que la trisomie 9p est pure. Ainsi, nous suggérons que les troubles autistiques ne seraient pas secondaires à des duplications de la région 9p23-24.3, comme ça été suggéré par certains auteurs.

**Mots-clefs :** trisomie 9p, ACPA, retard mental syndromique



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A106/#609

### Les délétions 4q distales : étude de cas et corrélation génotype-phénotype.

Lucile Boutaud (1), Clarisse Baumann (1), Céline Dupont (1), Séverine Drunat (1), Imane Baatout (1), Valérie Malan (2), Serge Romana (3), Marie-Christine De Blois (4), Brigitte Benzacken (1), Jeanne Amiel (5), Stanislas Lyonnet (5), Anne-Claude Tabet (1)

1. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Service d'Histologie, Embryologie, Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
3. Service d'Histologie, Embryologie, Cytogénétique, Hôpital Necker- Enfants malades, Paris, France
4. Service d'Histologie, Embryologie, Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
5. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Boutaud Lucile (lucile.boutaud@gmail.com)

Les délétions de la partie distale du bras long du chromosome 4 sont des anomalies chromosomiques rares (1/100 000 naissances). Une entité clinique a été définie en 2001 mais le phénotype des patients est très hétérogène et l'évocation d'une telle délétion par le simple examen clinique est difficile. Les patients rapportés présentent une dysmorphie non spécifique, des anomalies des extrémités de type synphalangisme ou chevauchements des orteils, des malformations cardiaques hétérogènes (Communication inter ventriculaires ou inter auriculaire, anomalies septales, cardiopathies complexes), des malformations rénales, gastro-intestinales ou squelettiques. La majorité des patients a également un retard mental et/ou de développement. Aucun de ces symptômes n'est constant le syndrome 4q ainsi défini présente donc une extrême variabilité clinique.

L'objectif de notre travail est de tenter de préciser la corrélation génotype-phénotype des délétions 4q distales afin d'aider au conseil génétique en particulier lors du diagnostic prénatal. Pour cela nous avons caractérisé moléculairement les délétions 4q de 6 patients recrutés via les consultations de génétique clinique des hôpitaux Jean Verdier, Robert-Debré et Necker-enfants malades et les avons comparées à 17 cas de la littérature. Cette caractérisation moléculaire des délétions a été faite par analyse chromosomique sur puce à ADN (CMA) soit grâce à des puces SNP Illumina®, soit par hybridation génomique comparative sur puces à ADN (aCGH) (Agilent® 180K, BlueGnome® 1Mb, PerkinElmer® 650K). Les délétions identifiées chez nos patients et les délétions prises en compte dans la littérature sont comprises dans l'intervalle 4q31-qter et sont des délétions pures, non associées à d'autres déséquilibres génomiques.

Sur notre série de 23 patients, aucune région minimale délétée commune n'a pu être définie. La taille de la délétion ne semble pas pouvoir être corrélée à la sévérité du phénotype. Cependant, nous suggérons la présence d'un polymorphisme dans la région terminale 4q35.2. Par ailleurs nous discutons des gènes potentiellement impliqués dans les anomalies cardiaques et des membres.

Malgré l'apport des techniques de cytogénétique moléculaires la corrélation génotype-phénotype précise des délétions 4q distales reste difficile. La caractérisation moléculaire d'un plus grand nombre de délétions 4q distales est nécessaire pour affiner cette corrélation. Toutefois, devant le spectre clinique, le conseil génétique doit rester prudent notamment en cas de diagnostic prénatal.

**Mots-clefs :** Délétion 4q distales, Corrélation Génotype phénotype, Analyse chromosomique sur puce à ADN

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A107/#623

### Case report : duplication 19p13.3 : un retard mental syndromique rare aux anomalies squelettiques fréquentes...

Valentine Marquet (1), Georges Bourrouillou (1), Laurence Bouneau (1), Franck Accadbled (2), Yves Chaix (3), Isabelle Oliver-Petit (4), Eric Bieth (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. Service de Chirurgie Orthopédique, Hôpital Purpan, Toulouse, France
3. Service de Neurologie Infectiologie, Hôpital des Enfants, Toulouse, France
4. Service d'Endocrinologie, Génétique et Gynécologie Médicale, Hôpital des Enfants, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Marquet Valentine (valma87@gmail.com)

Nous rapportons le cas d'une fillette de 5 ans née dans un contexte de RCIU qui présente un tableau clinique associant un retard psychomoteur modéré, un retard staturopondéral, une uropathie malformative bénigne, une dysplasie sévère de hanche, une microcéphalie et un syndrome dysmorphique. L'étude par CGH array a révélé chez cette enfant l'existence d'une microduplication 19p13.3 d'environ 3.5Mb et d'une microdélétion 7p22.3 d'environ 200kb, anomalies résultant du déséquilibre d'une translocation réciproque t(7;19)(q22.3;q13.3) portée par le père. Ce remaniement familial s'est déséquilibré sur le même mode chez une tante paternelle du cas index, atteinte elle aussi d'un retard mental syndromique, et au-cours d'une grossesse qui fut interrompue pour cette raison (IMG) chez une autre tante paternelle. Du fait de la faible taille de la microdélétion 7p22.3, nous considérons que ce réarrangement déséquilibré peut être assimilé à une microduplication 19p13.3 pure. Une revue de la littérature rapportant d'autres cas de microduplication 19p13.3 nous a permis de définir un spectre phénotypique commun. Notre observation contribue ainsi à préciser ce syndrome chromosomique rare, reconnaissable notamment par la fréquente association à des anomalies squelettiques (dysplasie de hanche, scoliose...).

**Mots-clefs :** duplication 19p13.3, retard mental syndromique, anomalies squelettiques

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A108/#633

### Délétion interstitielle de la région chromosomique 13q13q22 : Présentation d'un nouveau patient et revue de la littérature

Wiem AYED (1), Sonia MNALLAH (1), Olfa KILANI (1), Imen CHEMKHI (1), Sofien HENTATI (1), Naziha KHOUDJA GOUDER (2), Ahlem AMOURI (3)

1. Histologie et Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Neurologie, Libre pratique, Tunis, Tunisie
3. Histologie et Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** AYED Wiem (wiem.ayed@pasteur.ms.tn)

Nous rapportons le cas d'une délétion interstitielle de la région 13q13q22 chez une petite fille âgée de 10 mois.

La patiente a été adressée à notre Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique Médicale de l'Institut Pasteur de Tunis pour un retard du développement psychomoteur associé à une dysmorphie faciale. La période prénatale a été marquée par un retard de croissance intra-utérin. L'examen physique au moment du diagnostic a montré une dysmorphie faciale. Le retard de développement psychomoteur touche le tonus avec retard d'acquisition de la position assise et une hypotonie axiale objectivée à l'examen clinique.

L'IRM cérébrale a montré une importante atrophie vermienne associée à une atrophie cortico-sous-corticale sus tentorielle. L'échographie cardiaque a révélé une communication inter ventriculaire en voie de fermeture.

L'exploration cytogénétique (caryotype en bandes RHG) a montré une formule chromosomique féminine marquée par la présence d'une délétion intercalaire de l'un des chromosomes 13 à l'état homogène : 46,XX, del (13)(q13q22). Le caryotype des parents était normal.

A ce jour, près d'une centaine de délétions 13q ont été rapportées. Le phénotype des patients est variable selon la région délétée et son contenu en gènes. Les délétions interstitielles sont les plus rares.

Nous comparons le phénotype observé chez notre patiente à ceux observés chez les malades qui ont des délétions chevauchantes rapportées dans la littérature et nous discutons les gènes candidats potentiellement responsables des caractéristiques phénotypiques.

**Mots-clés :** Anomalie chromosomique, Chromosome 13, Délétion

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A109/#668

### Réarrangement chromosomique constitutionnel de type chromothripsis chez un adolescent présentant un retard mental syndromique.

Tiffany BUSA (1), Chantal MISSIRIAN (2), Anne MONCLA (2), Nicole PHILIP (1), Cornél POPOVICI (2)

1. Service de génétique clinique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France
2. Service de cytogénétique constitutionnelle, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France

**Auteur correspondant :** BUSA Tiffany (tiffany.BUSA@ap-hm.fr)

Le terme chromothripsis a récemment été utilisé pour décrire un nouveau type de réarrangement chromosomique complexe. Il est la conséquence d'un « événement catastrophique » unique suivi d'une reconstitution aberrante, générant des réarrangements chromosomiques multiples (translocation, inversion, délétion, duplication, triplication) dans une seule région. Initialement décrit à l'état somatique en cancérologie, de rares patients ont été depuis rapportés avec des anomalies chromosomiques constitutionnelles suite à un mécanisme de type chromothripsis.

Nous rapportons l'observation d'un patient âgé de 15 ans suivi pour un retard mental. La grossesse avait été marquée par une prise médicamenteuse (trithérapie anti-VIH, méthadone). A la naissance, en raison d'un syndrome dysmorphique associé à des anomalies des extrémités, un caryotype avait été réalisé. La formule chromosomique était sans anomalie de type 46XY. Le patient a présenté un trouble global de développement (marche à 24 mois, retard de langage) associé à des troubles du comportement (hyperactivité, colères). Ce patient a été également suivi pour des troubles sensoriels (surdité moyenne appareillée depuis l'âge de 10 ans, myopie sévère avec dystrophie maculaire). L'examen clinique retrouvait un syndrome dysmorphique, des anomalies des extrémités, une répartition gynoïde des graisses ainsi qu'un retard pubertaire, motivant la poursuite des explorations. L'analyse chromosomique sur puce à ADN a identifié quatre variations du nombre de copies à type de délétion siégeant sur le bras long du chromosome 8 (1.25Mb en 8q22.3, 380Kb en 8q24.12, 1.6Mb en 8q24.12q24.13 et 1.9Mb en 8q24.13). La délétion en 8q22.3 comprend le gène GRHL2, dont les mutations sont responsables d'une forme dominante de surdité non syndromique progressive. Ce réarrangement chromosomique complexe présent à l'état constitutionnel et rendant compte du tableau clinique observé évoque chez ce patient un mécanisme de type chromothripsis.

**Mots-clés :** Chromothripsis, Constitutionnel, Retard mental

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A110/#676

### Anneau du chromosome 17 en mosaïque : un nouveau cas

Aline Receveur (1), Emilie Bourel (2), Joris Andrieux (3), Marion Barathon (4), Gilles Morin (5), Florence Amram (5), Tania Dery (5), Guillaume Jedraszak (5), Michèle Mathieu-Dramard (5), Henri Copin (1), Bénédicte Demeer (5)

1. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la reproduction, CHU, Amiens, France
2. Explorations fonctionnelles du système nerveux, CHU, Amiens, France
3. Laboratoire de génétique médicale, hôpital Jeanne de Flandre, CHU, Lille, France
4. Service de Pédiatrie, CH, Creil, France
5. Unité de génétique médicale, CHU, Amiens, France

**Auteur correspondant :** DEMEER Bénédicte (demeer.benedicte@chu-amiens.fr)

Le syndrome du chromosome 17 en anneau (r(17)) est un syndrome rare dont le phénotype clinique est influencé par l'existence ou non d'une délétion de la région minimale critique du syndrome de Miller-Dieker (MDCR). La présence de MDCR est associée à un phénotype moins sévère, associant retard de croissance, déficit intellectuel, épilepsie, taches café au lait cutanées, et dysmorphie faciale discrète. A ce jour, 10 patients ont été rapportés avec ce syndrome, dont 4 sont porteurs d'une mosaïque cellulaire de chromosome 17 en anneau.

Nous rapportons un patient né à 41 SA, d'une grossesse sans particularité, avec des paramètres de naissance normaux – PN : 3kg350, TN : 49cm, score d'Apgar coté 10/10-, et un développement psychomoteur initial normal. L'apparition à l'âge de 3 ans d'une épilepsie fronto-parietale droite a fait pratiquer un caryotype sanguin mettant en évidence l'existence d'un anneau du chromosome 17 en mosaïque : mos 46,XY,r(17)(p13;q25)[42]/45,XY,-17[5]/46,XY[3]. Les études complémentaires par FISH et CGH-array (Agilent 44k) ont montré l'absence de délétion télomérique au niveau de l'anneau.

A l'âge de 6 ans, le patient présente une épilepsie généralisée sous bithérapie à visée anti-épileptique, un retard des acquisitions, des difficultés scolaires avec une orientation en école spécialisée, et des troubles attentionnels. L'examen cutané note l'existence de nombreuses taches café au lait -TCL-, diffuses, dont certaines ont un diamètre supérieur à 1 cm, sans lentignes des plis cutanés, évoluant depuis la naissance ainsi que 2 taches achromiques de petite taille, stables. Il ne présente ni retard de croissance (P : 20kg700, T : 106.8 cm) ni dysmorphie faciale. Le bilan malformatif initial avec IRM cérébrale, échographie cardiaque et fond d'œil était normal.

Hormis l'absence de retard de croissance, le phénotype clinique présenté par notre patient est compatible avec les cas de mosaïque de chromosome 17 en anneau rapportés dans la littérature.

Un cas d'anneau chromosomique sans délétion des télomères du chromosome 20 a été rapporté chez un patient présentant une épilepsie, faisant évoquer un lien entre ce type d'anneau et l'épilepsie. Bien que les anomalies de pigmentation cutanées soient décrites comme une manifestation aspécifique des « syndromes liés à l'anneau », l'existence d'une mosaïque de monosomie 17 chez notre patient soulève la question de la relation des TCL à la perte d'une copie du gène NF1 dans la population cellulaire monosomique. Des études complémentaires sur fibroblastes, en peau saine, et sur TCL sont en cours.

Il se pose également le problème de la surveillance de notre patient, celui-ci pouvant être à risque augmenté de cancer dû à une mosaïque cellulaire avec perte d'un allèle TP53 et BRCA1, similaire au patient porteur d'une mutation constitutionnelle de ces gènes suppresseurs de tumeurs.

**Mots-clefs :** Chromosome 17 en anneau, Epilepsie, Prédisposition tumorale

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A111/#678

### Identification des anomalies de structure des gonosomes dans le syndrome de Turner par cytogénétique conventionnelle et moléculaire.

Oifa KILANI (1), Mounira MEDDEB (2), Wiem AYED (1), Zinet MARRAKCHI (3), Saloua MAKNI (4), Ahlem AMOURI (5)

1. Histologie et Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Génétique Médicale, Privé, Tunis, Tunisie
3. Endocrinologie, Institut National de Nutrition, Tunis, Tunisie
4. Service de pédiatrie, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie
5. Histologie et Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** KILANI Oifa (oifa.kilani@pasteur.ms.tn)

Les des dysgonosomies constitutionnelles regroupent l'ensemble des anomalies de nombre ou de structure des chromosomes sexuels dont il résulte un groupe de dysgénésies gonadiques et un ensemble malformatif. Les syndromes de Turner et de Klinefelter constituent les dysgonosomies les plus fréquentes.

Le syndrome de Turner (ST), est une dysgénésie gonado-somatique de phénotype féminin lié à l'absence complète ou partielle d'un chromosome X dans la totalité ou une partie des cellules. Au niveau chromosomique, le ST n'est pas homogène, car à côté de la monosomie 45,X, longtemps considérée comme prédominante, il a été retrouvé d'autres caryotypes, anomalies de structure telles que les délétions, isochromosomes, anneaux et mosaïques diverses.

L'expression clinique du ST varie largement du tableau sévère associant petite taille, dysgénésie gonadique, lymphoedème et traits dysmorphiques, à une réduction modérée de la taille finale chez une fille sans disgrâce physique, à une ménopause précoce.

Le but de cette étude est de rapporter les circonstances de découverte, les traits cliniques et paracliniques de 10 patientes porteuses d'un syndrome de Turner en rapport avec une anomalie de structure de l'un des chromosomes X, ainsi que les résultats de l'application des méthodes conventionnelles puis moléculaires pour la mise en évidence et la précision de ce type d'anomalies.

Dans cette étude, nous nous proposons de fournir quelques éléments utiles sur la difficulté d'interprétation des anomalies de structure du chromosome X et les critères qui peuvent contribuer à une meilleure prise en charge thérapeutique et à un conseil génétique éclairé.

**Mots-clefs :** Syndrome de Turner, Caryotype, FISH

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A112/#682

### Cas d'une transmission familiale d'une délétion terminale 5p15.33 d'une taille de 4.2 Mb

Marie-Laure MAURIN (1), Marlène RIO (2), Odile RAOUL (1), Catherine OZIOLOU (1), Michel VEKEMANS (3), Catherine TURLEAU (3), Valérie MALAN (3)  
1. Histologie, Embryologie, Cytogénétique, Necker-Enfants Malades APHP, Paris, France  
2. Génétique Médicale. INSERM U781, Necker-Enfants Malades APHP, Paris, France  
3. Histologie, Embryologie, Cytogénétique. INSERM U781, Necker-Enfants Malades APHP, Paris, France

**Auteur correspondant :** MAURIN Marie-Laure (marielauremaurin@yahoo.fr)

Les délétions 5p sont connues pour être associées au syndrome du Cri du Chat. Les caractéristiques cliniques de ce syndrome comprennent un cri particulier à la naissance, une microcéphalie, une dysmorphie faciale caractéristique ainsi qu'un retard psychomoteur important. Les études de corrélations phénotype – génotype ont permis d'établir une carte phénotypique détaillée de la région et d'identifier deux gènes impliqués dans le déficit intellectuel sévère : la semaphorine F (SEMA5A) et delta-catenine (CTNND2) qui sont potentiellement impliqués dans le développement cérébral. Les délétions plus distales du bras court du chromosome 5, ne comprenant pas cette région critique, sont associées à un phénotype plus variable. En effet, certains patients ont un phénotype normal alors qu'il peut exister des difficultés d'apprentissage, un retard de langage, des troubles psychiatriques ou un déficit intellectuel chez d'autres patients. Les rares observations des cas familiaux de la littérature indiquent que le phénotype peut être variable au sein d'une même famille.

Nous rapportons ici le cas d'une femme âgée de 28 ans, enceinte de 14 semaines d'aménorrhée, porteuse d'une délétion de novo du bras court d'un chromosome 5, venue en consultation pour un conseil génétique pour sa descendance. Le caryotype avait été réalisé juste après sa naissance en raison d'un cri particulier évoquant le syndrome du Cri du Chat. Au cours de son évolution, la patiente a présenté des difficultés d'apprentissage mais a obtenu un CAP de vente et travaille actuellement en tant que magasinier. Par ailleurs, elle est suivie pour un syndrome dépressif. Afin de préciser la taille de la délétion, une CGH array a été effectuée et a révélé la présence d'une délétion terminale 5p15.33 d'une taille d'environ 4.2 Mb. Cette anomalie visible sur le caryotype a été aussi confirmée par des examens FISH avec des sondes de la région 5pter. Les deux gènes, SEMA5A et CTNND2, ne sont pas délétés. La patiente a souhaité bénéficier d'un diagnostic prénatal pour connaître le statut chromosomique du fœtus. L'examen FISH a montré qu'il était porteur de la même anomalie que sa mère. Le couple a désiré poursuivre la grossesse. Les différentes échographies fœtales se sont avérées normales. L'enfant est né à terme avec des mensurations normales. Actuellement, à l'âge de 18 mois, il existe un retard des acquisitions avec une marche non acquise. Il n'a pas de langage et présente un manque d'intérêt pour son environnement ainsi qu'un trouble du contact. Cette observation souligne la variabilité phénotypique des délétions 5pter distales, même au sein d'une même famille. Pour une prochaine grossesse, la demande par le couple de prise en charge en diagnostic préimplantatoire cytogénétique a été jugée recevable en raison du risque de déficience intellectuelle dans la descendance.

**Mots-clefs :** délétion 5p, variabilité phénotypique, Cri du Chat

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A113/#686

### Syndrome microdélétionnel 15q24 : corrélation génotype-phénotype : à propos de la plus petite délétion décrite

Mylène DEXHEIMER (1), Céline BONNET (2), Philippe JONVEAUX (2)  
1. Pôle Laboratoire, Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy, Vandoeuvre-les-Nancy, France  
2. Pôle Laboratoire, Laboratoire de Génétique et Unité INSERM 954, CHU de Nancy, Université de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France

**Auteur correspondant :** DEXHEIMER Mylène (m.beri@chu-nancy.fr)

Le syndrome microdélétionnel 15q24, décrit par Sharp et al. (2007), associe un retard de croissance, un retard psychomoteur, une dysmorphie faciale caractéristique, des anomalies squelettiques et des extrémités, des anomalies génitales chez les garçons, une hypotonie, des troubles du comportement.

Nous rapportons ici le cas d'une patiente âgée de 22 ans présentant une lenteur exécutive ayant conduit à un retard des acquisitions, frein à l'adaptation professionnelle. Il n'y pas d'antécédents familiaux de handicap physique et/ou cognitif. On note l'apparition de troubles de la marche depuis l'enfance avec des pieds en varus et des épisodes de chute. Il existe des crampes au niveau des membres inférieurs. Le langage est adapté avec une dysarthrie modérée. Sont notées des difficultés de concentration, des oublis et une très grande asthénie. A l'examen clinique, le visage est hypotonique, figé, avec un léger ptosis bilatéral, une orientation anti mongoloïde des fentes palpébrales, un palais ogival. Il existe une raideur au niveau rachidien. L'analyse chromosomique sur puce à ADN a mis en évidence une délétion interstitielle de 450kb (arr[hg19] 15q24.2(75,600,108-76,051,854)x1). Trente-cinq délétions de cette région ont été rapportées à ce jour, d'une taille variable (266kb à 6,1Mb) en raison de la présence de duplications segmentaires, la région minimale critique retenue étant de 1,1Mb.

Il s'agit donc de l'une des plus petites délétions décrites à ce jour : seul un patient présente une délétion identique (Mefford et al. 2012), associée à un tableau clinique similaire (dysmorphie caractéristique, développement psychomoteur dans les limites de la normale, troubles de l'attention, anomalie du rachis). Cette observation confirme donc la précédente et permet d'établir une corrélation génotype-phénotype plus précise dans le cadre de ce syndrome rare. Dix gènes Refseq sont en effet délétés, parmi lesquels SIN3A, régulateur de la transcription protéique via un complexe de déacétylation des histones. SIN3A, du fait de son interaction avec MECP2, participe ainsi à l'inhibition de la différenciation cellulaire des astrocytes en régulant la transcription de la protéine gliale GFAP. Ces données en font donc un gène candidat potentiel pouvant expliquer le retard d'acquisitions lié au syndrome 15q24.

**Mots-clefs :** délétion 15q24, retard psychomoteur, SIN3A



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A114/#696

### Etude des anomalies chromosomiques au sein du CHU de Marrakech: à propos de 97 cas

Hanane Ait hammou (1), Hassan Akallakh (1,2), Maryam Tajir (1), Nisrine Aboussair (1,2)

1. Service de génétique médicale, CHU Mohammed VI de Marrakech, Maroc  
2. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

**Auteur correspondant :** Ait hammou Hanane (hanane0604@yahoo.fr)

#### Introduction:

Les anomalies chromosomiques peuvent être de nombre ou de structure. Ces anomalies peuvent avoir un retentissement phénotypique grave associant un retard mental, un retard psychomoteur, une dysmorphie faciale et des anomalies somatiques diverses. En outre, elles sont une cause majeure de fausses couches spontanées.

Dans le présent travail, nous rapportons le premier bilan d'activité cytogénétique constitutionnelle post-natale du service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

#### Patients et méthodes:

C'est une étude rétrospective concernant les analyses cytogénétiques constitutionnelles post-natales réalisées chez 97 patients référés à notre service et ce entre décembre 2012 et octobre 2013. Nous avons calculé la prévalence des anomalies chromosomiques de nombre et de structure dans cette population et nous avons comparé ces chiffres avec ceux rapportés récemment dans des études similaires.

La technique utilisée est le caryotype constitutionnel à partir des lymphocytes T mis en culture in-vitro et bloqués en métaphase. Par ailleurs l'hybridation in situ (FISH) en fluorescence métagénétique ou interphasique a été effectuée chez certains patients.

**Résultat :** Globalement, sur les 97 cas étudiés, 54,7% avaient des anomalies chromosomiques dont les anomalies de nombre des autosomes représentaient le pourcentage le plus important (67%) suivies des anomalies de nombre des gonosomes (19%) puis les anomalies structurelles des autosomes (14%).

Dans les 67% des anomalies de nombre des autosomes, 82,7% avaient une trisomie 21 ; 10,3% avaient une trisomie 13 et 7% avaient une trisomie 18.

Concernant les anomalies de structure des autosomes, elles sont majoritairement représentées par des translocations et des remaniements chromosomiques (67%).

Les résultats ont été communiqués aux patients ou aux parents lors d'une consultation de génétique. De même un conseil génétique a été élaboré en fonction de l'anomalie chromosomique retrouvée.

**Conclusion :** Nos résultats sont similaires à ceux retrouvés dans la population Marocaine dans une étude précédente. Le taux élevé d'anomalies chromosomiques (54,7%) dans notre population est expliqué par la réticence d'effectuer un diagnostic cytogénétique anténatal et le refus d'interruption thérapeutique de grossesse et ce pour des considérations religieuses.

**Mots-clefs :** Anomalies chromosomiques, Aspects cytogénétiques, Conseil génétique

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A115/#720

### L'insensibilité à la douleur associé une dysgonosomie 47,XXY en mosaïcisme:à propos d'une observation.

khadija belhassan (1), laila bouguenouch (1), imane samri (1), hasna hamdaoui (2), el otmani ihsan (3), hanane sayel (1), said thranint (1), karimouldim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc  
2. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc  
3. unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassane II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** belhassan khadija (belhassan-khadija@hotmail.com)

#### Introduction :

L'insensibilité à la douleur est une maladie qui apparaît dans la petite enfance. Une consanguinité a été rapportée dans 50 % des cas. Les premiers signes de la maladie sont des épisodes de fièvre, et des automutilations. La perception de la douleur et de la chaleur est absente. Avec le temps, l'insensibilité devient plus profonde et entraîne des automutilations, auto-amputations et des cicatrices cornéennes, les fractures se consolident lentement et une pseudarthrose apparaît. Les patients peuvent présenter des difficultés d'apprentissage sévères.

#### Observation :

Nous rapportons une observation d'un enfant de 15 ans, issu d'un mariage consanguin qui consulte pour des lésions ulcéreuses de la peau, épisodes de fièvre et douleur de la jambe.

#### Résultats :

L'analyse cytogénétique chez notre patient a mis en évidence la présence d'une dysgonosomie 47, XXY en mosaïque.

L'analyse moléculaire est en cours.

#### Discussion :

L'insensibilité à la douleur est une maladie autosomique récessive caractérisée par une anhidrose, une insensibilité à la douleur, des automutilations et des épisodes de fièvre. Le diagnostic repose sur la présence des trois critères cliniques : anhidrose, perception diminuée de la douleur et déficit intellectuel. Le diagnostic est confirmé par des tests pharmacologiques et des données neuropathologiques. Etant donné les nombreuses mutations responsables de cette pathologie, le diagnostic moléculaire n'est pas utilisé en routine pour la confirmation du diagnostic.

Le conseil génétique rejoint celui des maladies autosomiques récessives.

#### Conclusion :

Le but de cette communication est la mise à jour de nos connaissances sur la génétique du syndrome d'insensibilité à la douleur en illustrant le rôle de la génétique médicale dans le diagnostic et le conseil génétique permettant une meilleure prise en charge des patients atteints

**Mots-clefs :** insensibilité à la douleur, dysgonosomie, conseil génétique

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A116/#729

### Deletion recurrente en14q32 et DUP14 : corrélation génotype-phénotype ?

Alban Ziegler (1), Estelle COLIN (1), Agnès GUICHET (2), Magalie BARTH (1), Martine BLAYAUD (3), Christelle DUBOURG (3), Dominique BONNEAU (1)  
1. génétique, CHU d'Angers, Angers, France  
2. génétique, CHU d'Angers, Angers, France  
3. biologie moléculaire, CHU de Rennes, Rennes, France

**Auteur correspondant :** Ziegler Alban (albanziegler@hotmail.fr)

La disomie maternelle du chromosome 14 est à l'origine d'un syndrome associant cliniquement un retard de croissance intra utérin, une hypotonie néonatale, des troubles alimentaires, une brachydactylie, un retard pubertaire, une obésité, une dysmorphie et des troubles légers des apprentissages. Du fait de l'aspécificité de ces signes, en particulier en période néonatale, ce diagnostic peut être difficile à établir.

On parle de pseudo disomie maternelle du chromosome 14 lorsque le mécanisme génétique ne correspond pas à deux chromosomes 14 hérités de la mère, mais lorsque deux autres mécanismes sont impliqués:

- d'une part une délétion en 14q32
- d'autre part des épimutations (hyperméthylation) aboutissant à une perte d'expression des gènes paternels DLK1 et RTL1.

Nous rapportons ici une délétion en 14q32 chez une patiente de 2 ans présentant un tableau évocateur de disomie maternelle du chromosome 14. Nous discutons le phénotype d'unidisomie parentale du chromosome 14 selon les mécanismes génétiques impliqués, tout particulièrement la délétion 14q32 avec les observations rapportées dans la littérature.

**Mots-clefs :** deletion 14q32, disomie uniparentale, hypotonie neonatale

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A117/#735

### Syndrome de Jacobsen atypique diagnostiqué chez un patient dans le cadre d'un bilan d'infertilité

Pascale Kleinfinger (1), Marie-Laure Maurin (2), Marlène Rio (3), Marc Le Lorc'h (2), Juliette Guibert (4), Alexandra Benachi (5), Nelly Frydman (6), René Frydman (5), Michel Vekemans (2), Serge Romana (2), Catherine Turleau (2), Valérie Malan (2)

1. Unité de Cytogénétique, Laboratoire CERBA, Saint Ouen L'Aumône, France
2. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, France, France
4. Centre de Fertilité et AMP, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
5. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Antoine Bécclère, Paris, France
6. Unité de Biologie de la Reproduction, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France

**Auteur correspondant :** Malan Valérie (valerie.malan@nck.aphp.fr)

Le syndrome de Jacobsen est un syndrome de gènes contigus dû à une délétion terminale du bras long d'un chromosome 11. La taille du segment délété varie entre 5 et 20 Mb avec un point de cassure proximal qui est distal à la région 11q23.2. Ce syndrome est caractérisé par un retard de croissance pré et post natal, une thrombocytopénie ou pancytopénie, une trigonocéphalie, une dysmorphie cranio-faciale et des malformations cardiaques. Le développement cognitif est variable allant d'une intelligence normale à une déficience intellectuelle le plus souvent. Il semble exister une corrélation entre la taille de la délétion et la sévérité des troubles cognitifs. Une cryptorchidie, des infections récurrentes et une sténose du pylore sont parfois aussi observés. Nous rapportons ici le cas d'un homme âgé de 31 ans, porteur d'une délétion interstitielle de novo du bras long d'un chromosome 11, adressé en consultation au centre de diagnostic préimplantatoire de l'hôpital Necker Enfants-Malades pour une demande de prise en charge. Le patient présente un développement intellectuel normal, une sténose congénitale du pylore, une ectopie testiculaire gauche opérée à 5 ans et une oligo-asthénospermie extrême. Le caryotype standard réalisé dans le cadre du bilan d'infertilité a mis en évidence une délétion 11q interstitielle. La caractérisation au niveau moléculaire de la taille de la délétion par une puce Agilent 60k a montré que celle-ci était située en 11q24.2q25 et avait une taille de 6.22 Mb. Le gène FLI1 est compris dans l'intervalle délété. La technique d'hybridation in situ sur cellules lymphocytaires a révélé une faible mosaïque avec 3% de cellules normales. Afin d'évaluer le pourcentage de cette mosaïque dans d'autres tissus, des examens par FISH sur spermatozoïdes et cellules buccales sont en cours. Le phénotype associé aux délétions 11qter (syndrome de Jacobsen) est variable notamment en raison de la taille et de la localisation du segment impliqué. Notre patient est porteur d'une délétion 11q24.2q25 d'une taille d'environ 6 Mb. Il ne présente pas de déficience intellectuelle mais une ectopie testiculaire et une sténose du pylore qui font partis du tableau clinique du syndrome de Jacobsen. La présence de la délétion 11q interstitielle en mosaïque chez ce patient est probablement à l'origine des signes cliniques frustrés observés chez lui. D'autres cas de délétion 11q en mosaïque ont déjà été décrits, peut-être en lien avec l'existence d'un site fragile FRA11B qui favoriserait la délétion. Cette observation souligne l'importance, en vue du conseil génétique, de rechercher par FISH une mosaïque lorsque le phénotype du patient est atypique et modéré. La demande de prise en charge en diagnostic préimplantatoire cytogénétique a été jugée recevable en raison du risque de déficience intellectuelle dans la descendance.

**Mots-clefs :** syndrome de Jacobsen, délétion 11qter, infertilité

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A118/#737

### L'identification d'une duplication 16p13.11 homozygote associée à un phénotype de malformations urologiques avec déficience intellectuelle : implication dans le phénotype ?

Nada Houcinat (1), Caroline Rooryck (1), Brigitte Llanas (2), Sébastien Moutton (1), Jérôme Toutain (1), Benoit Arveiler (3), Christian Combe (4), Didier Lacombe (1)

1. Génétique médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
2. service de néphrologie pédiatrique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
3. Génétique médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
4. service de néphrologie, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Houcinat Nada (nada.houcinat@hotmail.fr)

L'utilisation diagnostique de la CGH-array a permis l'identification de nombreuses anomalies de nombre de copies dans génome. Il n'est pas toujours aisé de conclure quand à la pathogénicité de certains de ces variants. La duplication 16p13.11 en est un exemple, en effet, celle-ci a été impliquée dans de nombreux phénotypes pathologiques, notamment dans les déficiences intellectuelles et les troubles neurocomportementaux, mais elle a également été identifiée chez de nombreux individus sains. Nous rapportons ici la première observation de porteurs homozygotes de la duplication 16p11.13, en discutant son implication dans le phénotype. Il s'agit de deux frères issus d'une union consanguine, le propositus se présentait avec une déficience intellectuelle modérée et des valves urétrales postérieures opérées à 15 jours de vie, évoluant par la suite avec une insuffisance rénale chronique. Le frère était considéré comme un enfant sain avec seulement des difficultés scolaires, jusqu'à la découverte lors d'un bilan de routine, réalisé à l'âge de 25 ans d'une insuffisance rénale chronique modérée, sur un syndrome de la jonction pyélocaliciale. L'histoire familiale a également révélé que le père était porteur d'une agénésie rénale unilatérale. La réalisation de la CGH-array a permis d'identifier 4 copies du locus 16p11.13 chez les frères et 3 copies chez les parents. Il apparaît qu'un phénotype de CAKUT « congenital anomalies of kidney and urinary tract » ségrégait dans cette famille, affectant préférentiellement les individus de sexe masculin. Ceci peut être attribué à la duplication, mais on ne peut exclure l'implication d'autres facteurs génétiques ou non dans le phénotype urologique. En effet, plusieurs études de cohortes ont rapporté l'association de cette duplication avec différentes anomalies congénitales mais rarement avec des malformations rénales. La duplication rapportée ici, est comparable à celle décrite dans la littérature, comportant au minimum 11 gènes connus dont les 5 onologues identifiés précédemment. Cette observation en plus d'enrichir les manifestations phénotypiques associées à la duplication 16p13.11, permet d'apporter plus d'éléments dans la compréhension du mécanisme physiopathologique sous-jacents et impliquant le déséquilibre du dosage génique. En effet, la déficience intellectuelle était moins sévère que ce qui a été décrit chez certains porteurs hétérozygotes, rapportés dans la littérature. Ainsi, la sévérité du phénotype n'est pas corrélée au nombre de copie de la région dupliquée. Le déséquilibre du dosage génique en lui-même semble être à l'origine de l'effet pathogène et ce indépendamment du nombre de copie.

**Mots-clés :** CGH-array, duplication 16p13.11, malformations urologiques

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A119/#738

### Découverte d'une trisomie partielle 13q33.2q34 avec translocation déséquilibrée emportant les gènes COL4A1 et COL4A2, chez une adulte présentant une leucoencéphalopathie vasculaire.

Manuèle Miné (1), Eva Pipiras (2), Andrée Delahaye (3), Brigitte Benzacken (4), Claire Ploton (5), Dimitri Renard (6), Pierre Labauge (7), Elisabeth Tournier-Lasserre (8)

1. Service de Génétique Neuro-Vasculaire et UMR-S740, Hôpital Lariboisière, AP-HP et Université Paris7 Paris Sorbonne, Paris, France
2. Service d'Histologie, Embryologie, et Cytogénétique, et INSERM, U676, Hôpital Jean Verdier, AP-HP et Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Bondy, France
3. Service d'Histologie, Embryologie, et Cytogénétique, et INSERM, U676, Hôpital Jean Verdier, AP-HP, et Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Bondy, France
4. Service d'Histologie, Embryologie, et Cytogénétique, et INSERM, U676, Hôpital Jean Verdier, APHP et Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Bondy, France
5. Service de Génétique Neuro-Vasculaire, Hôpital Lariboisière, AP-HP, Paris, France
6. Service de Neurologie, Hôpital Caremeau, CHU Nîmes, Nîmes, France
7. Service de Neurologie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
8. Service de Génétique Neuro-Vasculaire et UMR-S740, Hôpital Lariboisière, APHP et Université Paris7 Paris Sorbonne Cité, Paris, France

**Auteur correspondant :** Miné Manuèle (manuele.mine@lrb.aphp.fr)

Observations: Une patiente adulte nous a été adressée pour criblage du gène COL4A1, devant un tableau d'accidents vasculaires cérébraux transitoires et constitués à répétition depuis l'âge de 44 ans associé à des microsaignements, une leucoencéphalopathie diffuse et une dolichoectasie vertébrobasilaire. Aucun de ses apparentés du 1<sup>e</sup> degré n'avait d'antécédent neurovasculaire connu. Le séquençage des 52 exons et jonctions exon-intron de COL4A1 était normal. Par contre la QMPSF a montré une duplication complète de ce gène qui a été confirmée par microsatellites (3 allèles différents pour un des microsatellites de ce locus). Une CGH-array, (Agilent 180K) a montré que cette duplication concernait la région 13q33.2q34 (8,1 Mb de 106,991,469 à 115,096,466 en Hg18) et emportait 45 gènes dont COL4A1 et COL4A2. Aucun gène n'était interrompu. L'analyse par FISH a montré la présence d'une trisomie subtélomérique du bras long du chromosome 13 associée à une monosomie du bras court du chromosome 15p11.2. La région trisomique 13q33.2q34 est transloquée sur la région centromérique d'un des deux chromosomes 15 comme suit: 46,XX.ish der(15)t(13;15)(q33.2q34;p11.2)(wcp13+, 13qter+ ; 13qter+, D15Z1+, wcp15+).arr 13q33.2q34(106,991,469-115,096,466)x3. La délétion de la région NOR 15 est considérée comme un variant chromosomique non délétère. Les deux parents sont décédés, donc le caractère de novo ou hérité ne pouvait pas être testé directement.

Quelques cas de trisomie et monosomie 13q33.2q34 ont été décrits dans les bases de données DECIPHER et ISCA ainsi que dans la littérature, chez des enfants ou foetus atteints de dysmorphie, autisme, retard de développement, retard intellectuel, microcéphalie, hémangiome, splénomégalie, anémie hypochrome, phénotypes absents chez notre patiente. Cependant, des phénotypes moins sévères ont été décrits incluant une trisomie partielle 13q22qter chez une patiente de 33 ans avec AVC et leucoencéphalopathie vasculaire, qui soulève la question de la causalité de la duplication chez ce type de patients.

Afin de proposer un conseil génétique dans la famille de notre patiente, une FISH va être proposée à ses frères et sœurs, pour rechercher une translocation déséquilibrée.

Conclusion: Nous décrivons une translocation déséquilibrée réciproque conduisant à la formation d'une trisomie partielle 13q33.2q34 (duplication de 8.1 Mb emportant 45 gènes dont COL4A1

et COL4A2) chez une patiente adulte avec maladie des petites artères cérébrales diffuse sans dysmorphie ni anomalie extra-cérébrale. Bien que la pathogénicité de cette anomalie ne soit pas prouvée de façon formelle, ces données suggèrent fortement que la duplication des COL4A1 et COL4A2 soit responsable d'un phénotype de maladie des petites artères cérébrales.

**Mots-clefs** : COL4A1, leucoencéphalopathie vasculaire, duplication

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A120/#748

### Two novel inversions of chromosomes 3 and 10 associated with recurrent pregnancy loss

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Rim Frikha (2), Tarek Rebai (1)  
1. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie  
2. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant** : Abdelmoula Bouayed Nouha  
(nouha\_abdelmoulabouayed@yahoo.fr)

Some pericentric recurrent inversions are considered as polymorphisms such as inversion of chromosomes 9, 2, 10 and 12. Others are less common and can perturb meiosis leading to the production of unbalanced gametes through the formation of an inversion loop and recombination within inverted segments. Conception by the recombinant gamete usually results in spontaneous abortion or to a birth of seriously affected individual.

The aim of our study was to report two novel inversions of chromosomes 3 and 10 which were found in 2 patients with an history of recurrent pregnancy loss. The first was a maternal pericentric inversion of chromosome 3: 46,XX,inv(3)(p12p14) which was ascertained through karyotype analysis performed for a 31 year-old woman who had difficulties to conceive spontaneously and an history of two late pregnancies losses. Pregnancies were obtained after therapeutic induction and ended par a still birth for the first and by cesarean section and early death of the child at day 2, for the second. The second was a paternal paracentric inversion of chromosome 10: 46,XY,inv (10)(q25q26) which was recognized through karyotype analysis performed for a 35 year-old man who had a normal spermogram but failed to conceive with seven pregnancy losses (terms between 10 weeks and 16 weeks). The female partner had also unfortunately an equilibrated chromosomal abnormality which was a robertsonian translocation: 45,XX, rob(13 ;15)(q10 ;q10).

The relationship of uncommon chromosomes inversions to pregnancies losses and still birth is discussed, and a recommendation for karyotype analysis of recurrent abortion specimens is made.

**Mots-clefs** : inversion, recurrent pregnancy loss, chromosome 3

## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A121/#774

### Caractérisation moléculaire de cinq marqueurs chromosomiques surnuméraires dérivés du chromosome 18

Wafa Slimani (1), Molka Kammoun (1), Hannachi Hanene (1), Sarra Dimassi (1), Fatma Zohra Chioukh (2), Adnène Mlika (3), Ali Saad (1), Soumaya Mougou-Zerelli (1)

1. Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital universitaire Farhad Hached de sousse, Sousse, Tunisie  
2. Service de Néonatalogie, Centre maternité Monastir, Monastir, Tunisie  
3. Service de Pédiatrie, Hôpital Farhat Hached de Sousse, Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant** : Slimani Wafa (slimani\_wafe@yahoo.com)

Les marqueurs chromosomiques surnuméraires (MCS) sont de rares anomalies chromosomiques qui ne présentent pas de profil particulier de bandes en caryotype ce qui les rend par conséquent difficilement identifiables par les techniques de cytogénétique conventionnelle seule. Les MCS sont d'origine variable. La plupart des MCS sont des dérivés des chromosomes acrocentriques en particulier des chromosomes 15 et 22 et dont la moitié dérive du chromosome 15 (Crolla et al, 1998). Cependant, il a été montré qu'ils peuvent provenir de tous les chromosomes humains. Ils sont trouvés dans presque 0,044% des naissances vivantes et 0,075% des cas prénataux et sont sept fois plus fréquents chez les patients présentant une déficience mentale. Dans ce travail, nous rapportons le cas de cinq MCS dérivés du chromosome 18. Ces MCS ont été objectivés par caryotype conventionnel. Une caractérisation par hybridation fluorescente in situ (FISH) et hybridation Génomique comparative (CGH array) a été ensuite entrevue afin d'établir une corrélation phénotype-génotype.

Les patients partagent les mêmes traits dysmorphiques dont un visage triangulaire, oreilles basses, une grande bouche avec une lèvre supérieure mince, une fente palpébrale horizontale, un épicanthus et un strabisme chez deux patients. Aussi, une hypospadias, une communication inter-ventriculaire (CIV) et des problèmes cutanés ont été observés chez un seul patient. Le poids moyen à la naissance est significativement réduit. Tous ces signes cliniques varient d'un patient à l'autre et surviennent avec des degrés différents.

Les résultats de l'analyse moléculaire ont montré dans les cinq échantillons analysés la présence de 4 exemplaires du bras court du chromosome 18. La région se situe entre les bandes 18p11.1 et 18p11.31 et varie entre les positions génomiques 364 344 à 14 763 575.

Ce fragment dupliqué contient environ 70 gènes dont la plupart sont des pseudogènes. Parmi lesquels APCDD1, TYMS, YES1, VAPA, EMILIN2, LIPIN2, METTL4, ANKRD12, LAMA, MYOM1 et d'autres gènes dont la duplication pourrait avoir des répercussions sur le phénotype. La variation phénotypique pourrait être aussi expliquée par le degré de mosaïcisme du MCS dans d'autres tissus.

Les méthodes de cytogénétique moléculaire, tels que l'Hybridation Génomique comparative, conviennent bien pour l'identification et la caractérisation des marqueurs chromosomiques surnuméraires. Néanmoins, une étude biomoléculaire complémentaire peut être envisagée afin d'améliorer le diagnostic.

**Mots-clefs** : isochromosome 18p, corrélation génotype-phénotype, CGH array



## Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

A122/#798

### Analyse cytogénétique et corrélation génotype-phénotype d'une duplication partielle 3p14.1p24.1 pure et de novo associée à une microtie et un rein pelvien.

SOPHIE BRISSET (1), PHILIPPE LABRUNE (2), JUDITH MELKI (3), CORINNE METAY (4), LUCIE TOSCA (5), VIRGINIE VAST (5), CELINE LAGNEAUX (6), FLORENT FUCHS (7), GERARD TACHDJIAN (1)

1. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Site Antoine Béclère, Clamart, France
2. Service de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Site Antoine Béclère, Clamart, France
3. Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Site Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
4. Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
5. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Site Antoine Béclère, Clamart, France
6. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Site Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France
7. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Site Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France

**Auteur correspondant :** BRISSET Sophie (sophie.brisset@abc.aphp.fr)

#### Introduction

La trisomie 3p partielle pure est une anomalie rarement décrite. Les autres cas de trisomie 3p partielle rapportés sont le résultat d'une translocation déséquilibrée et le deuxième chromosome impliqué est variable. La trisomie 3p est associée à une dysmorphie crânio-faciale, un retard du développement psychomoteur et une cardiopathie. Nous rapportons un nouveau cas de duplication 3p14.1p24.1 pure découvert en anténatal, associé à un syndrome polymalformatif incluant une microtie et un rein pelvien et caractérisé par CGHarray

#### Matériel et Méthode

Un couple originaire du Mali, non consanguin, a été pris en charge au diagnostic anténatal suite à la découverte de différentes anomalies échographiques du 2<sup>ème</sup> trimestre (RCIU, profil aplati, brachycéphalie, absence des pavillons des oreilles, rein pelvien à gauche). Le caryotype fœtal réalisé à partir d'un prélèvement de liquide amniotique à 23 SA+3 a mis en évidence une duplication partielle du bras court d'un chromosome 3. Cette anomalie de structure a été caractérisée précisément par CGHarray (Agilent 180K) et est survenue de novo. Après une consultation de conseil génétique, le couple a souhaité poursuivre la grossesse et accueillir l'enfant. Un petit garçon est né à 40 SA avec un PN de 2420g (inférieur au 5<sup>e</sup> percentile), une TN de 48cm (entre le 10<sup>e</sup> et le 3<sup>e</sup> percentile) et un PC à 33,5 cm (entre le 10<sup>e</sup> et le 3<sup>e</sup> percentile) et a été hospitalisé pour des difficultés alimentaires. Il présentait une hypotonie axiale, une dysmorphie avec un microrétrognathisme et une absence des pavillons des deux oreilles, un micropénis, une sténose de l'artère pulmonaire et un rein gauche pelvien. L'IRM cérébrale a montré une microcéphalie avec des sillons corticaux peu profonds, un corps calleux mince et un V3 un peu dilaté. Les pavillons des oreilles étaient absents, les conduits auditifs difficilement visualisés, les oreilles moyennes et internes étaient en place.

#### Résultats

La duplication 3p14.1p24.1 a été caractérisée précisément par CGHarray. Il s'agit d'une duplication pure et de novo.

#### Conclusion

Une comparaison des éléments cliniques et génétiques est établie entre notre cas et ceux rapportés dans la littérature et la corrélation génotype-phénotype est discutée. Notre observation se distingue par l'existence d'une microtie. La région dupliquée comporte 17 microARN. Les miRNA sont des régulateurs post-transcriptionnels capables d'extinction de l'expression d'un gène et il a déjà été rapporté dans la littérature une association entre miRNA et microtie. Les données génétiques seront étudiées à la lumière des données de la

littérature ainsi que l'hypothèse de la répression transcriptionnelle d'un gène impliqué dans le développement de l'oreille externe.

**Mots-clefs :** duplication 3p partielle et pure, CGHarray, microtie

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A123/#36

### Détection de M. tuberculosis par PCR nichée à partir de biopsies ganglionnaires fixées et incluses en paraffine.

Maroua Fliss (1), Soumaya Rammeh (1), Mohamed Ferjaoui (2), Rachida Zermani (1), Lamia Hila (3)

1. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, EPS Charles Nicole, Tunis, Tunisie
2. Service d'ORL, EPS, Charles Nicole, Tunis, Tunisie
3. Département de Génétique, Faculté de Médecine, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Fliss Maroua (marouafliss@hotmail.fr)

La tuberculose, due à une contamination par des agents pathogènes du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, cause 1,3 à 1,6 million de décès chaque année dans le monde. Elle se présente sous diverses formes: pulmonaire et extra pulmonaire. Les atteintes ganglionnaires représentent les localisations extra pulmonaires de la maladie les plus fréquemment observées. Le traitement de la tuberculose ganglionnaire ne fait pas consensus. L'OMS a défini une stratégie de prise en charge des tuberculoses extra pulmonaires pour les pays de forte prévalence du VIH et à ressources limitées. Le traitement est habituellement basé sur l'association d'antituberculeux. Dans le cas de la tuberculose ganglionnaire, le traitement est, a priori, identique à celui des formes pulmonaires.

En Tunisie, la tuberculose et notamment la forme ganglionnaire continue à poser un grand problème de santé publique. Son caractère peu bacillaire rend l'examen direct et la culture négatifs dans un nombre, non négligeable, de cas: le diagnostic en cette localisation est en pratique basé sur l'examen anatomopathologique (association de nécrose caséuse et granulome épithélioïde et géantocellulaire). Toutefois, ce dernier manque de spécificité dans la forme granulomateuse sans nécrose, d'où la nécessité d'avoir des techniques plus sensibles et rapides. L'utilisation de la PCR permet d'accélérer le processus, souvent long, d'identification classique.

L'objectif de ce travail a été de mettre en place une PCR nichée pour confirmer la présence de *Mycobacterium tuberculosis* permettant d'une part un diagnostic précoce et rapide de la tuberculose ganglionnaire et d'autre part afin d'éviter une thérapie abusive pour les patients suspects sur le plan anatomopathologique.

Une série de 34 biopsies ganglionnaires, fixées au formol et incluses en paraffine, a été étudiée en utilisant pour cible la séquence IS6110, caractéristique du complexe *M. tuberculosis*. Toutes les biopsies ont été prélevées avant traitement. Tous les sujets ont bénéficié d'une thérapie à type de mono (22 cas), bi (4cas), tri (3cas) ou quadrithérapie (5cas).

La PCR constitue un outil spécifique pour la détection de *M. tuberculosis* dans les tissus fixés au formol et inclus en paraffine et une bonne technique de confirmation du diagnostic de tuberculose ganglionnaire paucibacillaire (19 PCR positives sur 29 cas de lésions caséo-folliculaires, 4 PCR positives sur 5 lésions granulomateuses sans nécrose).

Les résultats de l'étude moléculaire seront confrontés à ceux de l'étude anatomopathologique et la pertinence du traitement sera évaluée sur la base du diagnostic final retenu, dans le but de mettre en place une meilleure stratégie pour le diagnostic de la tuberculose ganglionnaire dans notre pays.

**Mots-clefs :** PCR nichée, Biopsies ganglionnaires fixées, *M. tuberculosis*

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A124/#66

### Potentiel thérapeutique des inhibiteurs du protéasome dans la porphyrie érythropoïétique congénitale

Jean-Marc Blouin (1), Yann Duchartre (1), Pierre Costet (2), Magalie Lalanne (1), Cécile Ged (1), Hubert de Verneuil (1), Emmanuel Richard (1)  
1. INSERM U1035, Université Bordeaux 2, Bordeaux, France  
2. Animalerie spécialisée, Université Bordeaux 2, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Blouin Jean-Marc (jean-marc.blouin@u-bordeaux2.fr)

La porphyrie érythropoïétique congénitale (PEC) est une maladie rare de transmission autosomique récessive, caractérisée par un déficit en uroporphyrinogène III synthase (UROS), la 4ème enzyme de la voie de biosynthèse de l'hème. Ce déficit se traduit par une accumulation massive d'uroporphyrine I et de coproporphyrine I dans les cellules érythroïdes responsable d'une anémie hémolytique et d'une photosensibilité cutanée. L'analyse du gène UROS a mis en évidence de nombreuses mutations faux-sens chez les patients CEP. Au niveau protéique, ces mutations peuvent altérer le mécanisme catalytique de l'enzyme ou la déstabiliser en modifiant sa conformation native. Ces protéines mal repliées peuvent conserver une activité enzymatique résiduelle significative mais être prématurément dégradées dans la cellule. Une approche nouvelle serait de rétablir la stabilité de la protéine ou d'inhiber sa dégradation afin d'augmenter l'activité enzymatique résiduelle.

Les mutants faux-sens C73R et P248Q du gène UROS ont une prévalence élevée chez les patients CEP. Il a déjà été démontré que la mutation C73R induit un défaut de stabilité de la protéine et aboutit à une dégradation rapide de l'UROS par le protéasome. Le MG132, un inhibiteur du protéasome permet de restaurer l'expression du mutant C73R et d'augmenter l'activité enzymatique UROS in vitro dans des fibroblastes.

A partir de ces résultats prometteurs, nous avons testé dans cette étude l'efficacité des inhibiteurs du protéasome sur le mutant P248Q, in vitro dans les cellules érythroïdes humaines K562 et in vivo en utilisant un modèle murin de PEC (Urosmut248/mut248). Grâce à des protéines de fusion UROS-eGFP nous avons montré que les mutants C73R et P248Q sont instables et prématurément dégradés dans les cellules érythroïdes K562. L'expression des 2 mutants est partiellement restaurée par des inhibiteurs du protéasome, le MG132 et le Bortezomib. Afin d'évaluer in vivo le potentiel thérapeutique des inhibiteurs du protéasome, nous avons traité les souris Urosmut248/mut248 avec du Velcad (bortezomib), une molécule déjà utilisée en clinique. Après un traitement de 9 semaines avec des injections répétées de bortezomib nous avons observé une diminution significative des quantités de porphyrines dans les globules rouges et les urines des souris urosmut248/mut248 se traduisant par une nette amélioration de la photosensibilité.

Nous avons donc démontré qu'une approche pharmacologique pouvait être envisagée afin d'augmenter l'activité UROS résiduelle et ainsi moduler in vivo l'expression du phénotype de la PEC. Ces résultats ouvrent la voie au développement de nouvelles stratégies pharmacologiques telles que les chaperons pharmacologiques qui auraient pour but de stabiliser les différents mutants identifiés de l'UROS afin d'améliorer le phénotype clinique de la maladie et plus particulièrement la photosensibilité cutanée.

Blouin et al. PNAS 2013 sous presse.

**Mots-clefs :** Inhibiteurs du protéasome, Porphyrie érythropoïétique congénitale, Bortezomib

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A125/#67

### Analyse transcriptionnelle de l'hippocampe dans un modèle souris de trisomie 21 (Down syndrome) segmentale.

Pierre L. Roubertoux (1), Nathalie Baril (2), Catherine Bartoli (1), Christophe Scajola (1), Véronique Vidal (3), Sylvie Tordjman (4), Ed Rubin (5), Desmond Smith (6), Michèle Carlier (7)

1. INSERM U 910: Génétique Médicale, Génomique Fonctionnelle, Aix-Marseille University, Marseille, France
2. Fédération 3 C, France, Aix-Marseille University, Marseille, France
3. IMABIO, IMABIO, Clermont-Ferrand, France
4. Psychiatrie adulte & CNRS, Université de Rennes, Rennes, France
5. Genome Sciences Department, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, USA
6. Department of Molecular and Medical Pharmacology, UCLA School of Medicine, Los Angeles, USA
7. CNRS UMR 6146 : Laboratoire de Psychologie Cognitive, Aix-Marseille University, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Roubertoux Roubertoux (pierre.roubertoux@univ-amu.fr)

La trisomie 21 (Down syndrome) est la conséquence d'une copie surnuméraire du chromosome 21. Les observations chez les patients et chez la souris indiquent le rôle joué par la région D21S17-ETS2 dans les caractéristiques morphologiques cérébrales et dans la cognition. L'analyse des gènes de la région D21S17-ETS2 indique qu'aucun n'est capable, à lui seul, d'expliquer les anomalies cérébrales et cognitives observées dans le syndrome. On suggère que le phénotype associé à D21S17-ETS2 implique la dérégulation des gènes extérieurs à cette région. Nous avons généré des trisomies segmentaires couvrant la région D21S17-ETS2 en insérant chez la souris 4 fragments contigus du chromosome 21. Nous avons criblé la transcription de 25,000 gènes (Agilent Technologies) dans l'hippocampe de souris portant une trisomie segmentaire (4 par lignée transgénique). Une copie excédentaire d'un fragment de chromosome de D21S17-ETS2 modifie la transcription de nombreux gènes (de 309 to 1557). La plupart d'entre-eux impacte la morphologie neuronique (développement de l'axone, des dendrites) les mécanismes gliaux, la neurotransmission. Les recouvrements, entre les 4 lignées, de gènes sous transcrits ou sur transcrits sont examinés ainsi que la redondance des voies entre les gènes et les cibles cellulaires.

**Mots-clefs :** trisomie 21, souris, transcription

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A126/#79

### Impact des polymorphismes C3435T et C452T sur la réponse au traitement par méthotrexate dans la polyarthrite rhumatoïde de la population de l'Ouest Algérien.

Wefa Boughrara (1), Meriem Aberkane (2), Ahmed Benzaoui (3), Chahinez Dahmani (1), Wided Benbayer (1), Imène Boudraa (1), Abdallah Boudjema (1)  
1. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf (USTO-MB), Oran, Algérie.  
2. Département de Pharmacie, Université Es Senia d'Oran, Oran, Algérie.  
3. Service de Rhumatologie, Centre Hospitalo-universitaire d'Oran (CHUO), Oran, Algérie.

**Auteur correspondant :** Boughrara wefa (wefaboughrara@gmail.com)

#### Introduction:

Le méthotrexate (MTX) est le traitement de fond de la polyarthrite rhumatoïde (PR). Le MTX intracellulaire est converti en polyglutamate MTX (MTX-PG) par la folypolyglutamate synthase (FPGS); l'effet inverse étant obtenu par la g-glutamyl hydrolase (GGH), qui entraîne un afflux de cette même molécule par la P-glycoprotéine (P-gp) codé par le gène Multidrug resistance 1 (MDR1). Le polymorphisme C3435T du gène MDR1 réduit le nombre des transporteurs P-gp, aussi le polymorphisme C452T du gène GGH modifie la conformation de la surface moléculaire catalytique et réduit l'affinité de liaison avec les chaînes du MTX-PG. Ces deux polymorphismes induisent une accumulation dans la cellule du MTX et une toxicité du traitement.

#### Objectif:

Le but de cette étude a consisté à rechercher une corrélation entre les polymorphismes C3435T et C452T respectivement du gène MDR1 et GGH et l'efficacité et/ou toxicité au traitement par MTX chez les patients atteints de PR.

#### Matériels et Méthodes:

La population étudiée était composée de 110 atteints de PR et de 101 contrôles non apparentés et originaires de l'Ouest Algérien. L'efficacité du traitement a été évaluée en calculant le score d'activité de la maladie (DAS28). Les effets secondaires (ADEs) ont été recherchés auprès des patients. Le génotypage a été réalisé par la technique de discrimination allélique en temps réel (Taqman) PCR Risa/RFLP. Les résultats obtenus sont analysés par le test  $\chi^2$  et le risque relatif des génotypes.

**Résultats:** Initialement, nous avons montré que l'allèle 3435C (0.33) du gène MDR1 est l'allèle mineur et que l'allèle 452T du gène GGH est l'allèle mineur (0,08), et secondairement, la comparaison des fréquences génotypiques/alléliques entre répondeurs/non répondeurs et la présence de toxicité/absence de toxicité du MTX n'a montré aucune signification statistique. Ces données sont en accord avec celles rapportées dans la littérature. Cependant d'autres études ont montré des résultats différents avec des associations alléliques et génotypiques avec aussi bien l'efficacité que la toxicité du traitement par MTX.

#### Conclusion :

Nous avons montré, pour la première fois en Algérie, que les polymorphismes C3435T du gène MDR1 et C452T du gène GGH n'influencent ni l'efficacité ni la toxicité au traitement par MTX. Il serait intéressant d'accroître le nombre de cas étudiés pour confirmer nos résultats mais aussi d'explorer et de caractériser d'autres polymorphismes des gènes impliqués dans la pharmacogénétique du MTX dans la PR.

**Mots-clés :** méthotrexate, polyarthrite rhumatoïde, algérie population

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A127/#85

### Utilisation de l'AAV9 pour la thérapie génique du syndrome de Rett

Valérie Matagne, Jean-Christophe Roux, Laurent Villard  
Neurogénétique Humaine, Aix Marseille Université, INSERM, GMGF UMR\_S 910, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Matagne Valérie (valerie.matagne@univ-amu.fr)

Le syndrome de Rett est une maladie neurologique progressive d'origine génétique qui affecte les filles avec une fréquence de 1/15.000 et est l'une des causes principales de déficience intellectuelle d'origine génétique chez la fille. La plupart des cas sont causés par une mutation dans le gène MECP2 (Methyl CpG binding protein 2). Les premiers symptômes se manifestent chez les filles âgées de 6 à 18 mois et consistent en un arrêt de croissance cérébrale, un ralentissement du développement et une perte/régression des capacités psychomotrices acquises. A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement pour le syndrome de Rett et seuls sont disponibles les traitements visant à l'amélioration des symptômes causés par la maladie.

Il a été récemment montré que la réintroduction du gène MECP2 dans un modèle murin du syndrome de Rett résulte en une guérison quasi-totale de l'animal adulte malade (Robinson et al, 2012), ce qui fait de la thérapie génique une piste prometteuse dans le traitement de cette maladie. C'est pourquoi nous avons entrepris de tester l'efficacité de la thérapie génique dans le syndrome de Rett.

Les virus recombinants Adeno-Associés (AAV ou Adeno-Associated Virus) sont des virus non-pathogènes, à faible immunogénicité déjà utilisés en thérapie génique chez l'homme.

Parmi les différents sous-types, nous avons décidé d'utiliser l'AAV9 car celui-ci traverse la barrière hémato-encéphalique (BHE) après injection intraveineuse (Foust et al, 2009; Duque et al, 2009).

Nous avons généré un vecteur exprimant une version optimisée du gène MeCP2 (MCO) sous le contrôle de son promoteur, qui a été incorporée dans le virus AAV9 (AAV9-MCO). Un virus contrôle exprimant la GFP à la place du MCO a également été produit (AAV9-GFP).

L'efficacité de ces 2 virus a d'abord été testée in vitro en utilisant des cultures primaires mixtes de neurones et glie. Les résultats obtenus montrent une expression de MCO et de la GFP dans les neurones uniquement, ce qui est attendu puisque MECP2 est principalement exprimé dans les neurones.

Une étude préliminaire utilisant le virus contrôle AAV9-GFP a été réalisée en injectant le virus chez des souris adultes via la veine de la queue. Les résultats montrent une expression de la GFP dans le cerveau, et plus spécifiquement dans les neurones, ce qui confirme bien que le virus AAV9 traverse la BHE. Forts de ces résultats préliminaires positifs, nous allons très prochainement traiter les souris modèles du syndrome Rett avec l'AAV9-MCO. Les effets bénéfiques potentiels de la thérapie seront évalués par des tests comportementaux (open field, rotarod, grip strength, elevated plus maze) et la bio-distribution des cellules infectées par immunohistologie.

Les résultats obtenus grâce à ces études nous permettront de déterminer si l'AAV9 est un vecteur adéquat pour la thérapie du syndrome de Rett ou si d'autres sérotypes (AAV10, AAV9 muté) et/ou techniques adjuvantes (sonoporation, mannitol) doivent être envisagées.

**Mots-clés :** Syndrome de Rett, AAV9, MeCP2

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A128/#109

### Variations d'expression de microARNs dans la Progeria de Hutchinson-Gilford (HGPS) : résultats d'une étude du « miRNome » et perspectives

Maxime Mondoloni, Danielle Depetris, Elise Kaspi, Claire Navarro, David Salgado, Sophie Perrin, Andrée Robaglia-Schlupp, Pierre Cau, Nicolas Levy, Annachiara De Sandre-Giovanolli, Patrice Roll  
INSERM UMR\_S910, Faculté de Médecine Timone – Aix Marseille Université, Marseille, France

**Auteur correspondant :** ROLL Patrice (patrice.roll@univ-amu.fr)

A ce jour, le rôle des microARNs (miARNs) au cours du vieillissement a été peu étudié chez les mammifères. De rares travaux sur l'expression des miARNs ont été publiés dans le domaine du vieillissement prématuré d'origine génétique, principalement dans un modèle murin de progeria (Zmpste24<sup>-/-</sup>).

L'objectif de notre travail est de mieux comprendre le rôle des miARNs au cours du vieillissement physiologique et pathologique. Pour cela, nous avons choisi comme « modèle » le vieillissement accéléré chez l'homme (Progeria de Hutchinson-Gilford, HGPS) et la souris (modèle de progeria KI G609G, généré par notre équipe).

La première étape de notre étude a consisté à établir un profil d'expression de miARNs (miRNome) dans des fibroblastes primaires, au même passage (P11), de patients atteints de progeria (n=3) en comparaison à des sujets sains (n=2). Sur les 375 miARNs testés, 174 étaient exprimés (Cp).

L'étude vise actuellement à élargir le nombre de patients et de sujets témoins analysés, en ciblant des miARNs sélectionnés à partir de l'étude du miRNome, et à prouver le rôle de certains d'entre eux. Des études fonctionnelles utilisant des « antagomiRs » ou des bloqueurs de sites de fixation du miARN sur sa cible, permettront d'étudier les voies métaboliques potentiellement dérégulées et leurs rôles physiopathologiques. Nous envisageons également d'évaluer l'expression de ces miARNs dans les différents tissus du modèle murin KI G609G. Ce modèle pourra enfin permettre de tester in vivo de nouvelles approches thérapeutiques dans ce contexte, visant à améliorer son phénotype progéroïde.

Cette étude représente une étape clé afin de comprendre le rôle des miARNs au cours du vieillissement, d'identifier de nouveaux biomarqueurs et de nouvelles cibles thérapeutiques dans le vieillissement prématuré d'origine génétique.

**Mots-clés :** microARN, Progeria de Hutchinson-Gilford, Physiopathologie

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A129/#118

### L'inactivation de l'hélicase Pif1, chez la souris, induit une myopathie mitochondriale à début tardif avec délétions multiples de l'ADN mitochondrial

Laetitia Berg-Alonso (1), Sylvie Bannwarth (2), Gaëlle Augé (2), Konstantina Fragaki (3), Françoise Lespinasse (1), Sandra Lacas-Gervais (4), Fanny Burel-Vandenbos (5), Jean-François Michiels (6), Romain Gherardi (7), Jill E Kolesar (8), Brett Kaufman (8), Lea Harrington (9), Véronique Paquis-Flucklinger (2)

1. IRCAN CNRS UMR7284/INSERM U1081/UNS, Faculté de Médecine, Nice, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Archet 2, Nice, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
4. Centre Commun de Microscopie Electronique, Université Nice Sophia Antipolis, Nice, France
5. Service d'Anatomo-pathologie, CHU Pasteur, Nice, France
6. Service d'Anatomo-pathologie, CHU Pasteur, Nice, France
7. Service d'Anatomo-pathologie, Université Paris Est, Créteil, France
8. Animal Biology, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, USA
9. Institut de Recherche en Immunologie et en cancérologie, Université de Montréal, Montreal, Canada

**Auteur correspondant :** Paquis-Flucklinger Véronique (paquis@unice.fr)

Les hélicases mitochondriales Twinkle et Dna2 jouent un rôle crucial dans la réplication et la réparation de l'ADN mitochondrial (ADNmt). Chez l'homme et la souris, des mutations dans ces gènes sont responsables de myopathies mitochondriales avec délétions multiples de l'ADNmt.

Dans cette étude, nous montrons, que l'inactivation de l'hélicase Pif1 chez la souris, est également responsable d'un tel phénotype. En effet, ces animaux développent une myopathie mitochondriale avec diminution de leur activité physique (test volontaire à l'effort). Nous montrons également que ces animaux présentent un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale dans le muscle et le cœur. Nous avons retrouvé des délétions multiples de l'ADNmt dans le muscle de ces animaux, semblables à celles observées chez les patients qui présentent une maladie mitochondriale avec instabilité du génome mitochondrial. D'autre part, nous confirmons la localisation mitochondriale de Pif1 et montrons son interaction avec l'ADNmt. Après stress oxydatif, sur des MEFs ("Mouse Embryonic Fibroblasts") mPif1<sup>-/-</sup>, nous démontrons que cette hélicase joue un rôle dans la réparation de l'ADNmt.

Ces résultats font donc de ces souris mPif1<sup>-/-</sup> un nouveau modèle murin de myopathie mitochondriale avec instabilité de l'ADNmt et font du gène Pif1 un nouveau gène candidat pour ces pathologies.

**Mots-clés :** Myopathie mitochondriale, Stabilité ADNmt, Hélicase Pif1



## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A130/#167

### Analyse du phénotype de doubles mutants chez la souris : étude du rôle de SOX10 au cours de migration des progéniteurs entériques

Yuli Watanabe (1), Florence Broders Bondon (2), Viviane Baral (1), Véronique Pingault (1), Sylvie Dufour (2), Nadège Bondurand (1)

1. INSERM U955, IMRB, Equipe 11, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France  
2. Institut Curie CNRS UMR144, Institut Curie, Paris, France

**Auteur correspondant :** Bondurand Nadege (nadege.bondurand@inserm.fr)

L'implication de SOX10 dans le syndrome de Waardenburg-Hirschsprung (hypopigmentation, surdité et aganglionose intestinale) ainsi que l'étude de nombreux modèles animaux ont permis de mettre en évidence l'importance de ce facteur de transcription au cours du développement des cellules de la crête neurale (CN) et du système nerveux entérique (SNE) en particulier. Son rôle est maintenant bien établi et des interactions entre Sox10 et de nombreux gènes impliqués dans le développement du SNE ont été décrites ces dernières années. En particulier, nous avons montré que les interactions entre Sox10 et Zeb2 ou la voie de signalisation Edn3/EDNRB sont indispensables à la survie des cellules de crête neurale entériques (CCNE) et à leur différenciation. Cependant, une éventuelle implication de SOX10 dans les processus d'adhésion et de migration cellulaires restait à définir.

L'importance de Itgb1, codant la sous unité  $\beta 1$  des intégrines, dans la migration et l'adhésion des progéniteurs entériques ainsi que sa co-expression avec SOX10 au cours du développement du SNE nous ont poussés à tester la possibilité d'une interaction génétique entre ce récepteur majeur d'adhésion à la matrice extracellulaire et Sox10. Pour cela, nous avons croisé des souris Sox10lacZ/+ avec des souris HtPA ::Cre; beta1neo/+ et beta1fl/fl et nous avons comparé le phénotype des embryons de différents génotypes obtenus durant le développement des cellules de la CN. Les embryons double mutants Sox10lacZ/+;HtPA ::Cre; beta1neo/fl ont un phénotype entérique très sévère en comparaison des embryons simple mutants. Les défauts sont détectables dès E11.5 et ne sont pas compensés à la naissance. Une analyse par vidéo time-lapse nous a permis de montrer que les anomalies observées proviennent d'une réduction de la vitesse et d'une altération de la directionnalité de la migration des CCNE double-mutantes, qui se révèlent incapables de former un réseau neuronal organisé. La modulation de SOX10 altère les intégrines  $\beta 1$ , suggérant que l'expression de SOX10 est critique pour la fonction de cette molécule d'adhésion.

L'ensemble de ces résultats indique clairement que SOX10 contrôle l'adhésion et la migration des CCNE et contribue à étendre notre compréhension des bases moléculaires et cellulaires des défauts observés chez les modèles animaux mais surtout chez les patients porteurs de mutations de SOX10, ouvrant de nouvelles perspectives thérapeutiques pour leur prise en charge.

**Mots-clés :** SOX10, système nerveux entérique, crête neurale

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A131/#216

### Canis-DNA : une biobanque française pour la collection et la distribution d'échantillons d'ADN de chiens, modèles spontanés de maladies génétiques humaines

Laetitia Lagoutte (1), Amaury Vaysse (1), Laetitia Herbin (1), Gilles Chaudieu (2), Philippe Pilorge (3), Nadine Bothereil (1), Benoit Hedan (4), Patrick Devauchelle (5), Clotilde De Brito (4), Anne-Sophie Guillory (4), Eric Guaguère (6), Francis Galibert (4), Anne Thomas (7), Catherine André (4)

1. UMR6290, CNRS/Université Rennes 1, Institut de Génétique et Développement, Rennes, France  
2. Clinique vétérinaire, Beaulieu, Chamalières, France  
3. Clinique vétérinaire, Saint Cyr, Rennes, France  
4. UMR6290, CNRS/Université Rennes1, Institut de Génétique et Développement, Rennes, France  
5. Service de Cancérologie, MICEN VET, Créteil, France  
6. Clinique vétérinaire, Saint Bernard, Lomme, France  
7. Laboratoire de Génétique animale, Antagene, La Tour de Salvagny, France

**Auteur correspondant :** Lagoutte Laetitia (laetitia.lagoutte@univ-rennes1.fr)

Récemment, la communauté scientifique s'est intéressée au chien comme un modèle spontané puissant pour disséquer les composantes génétiques de maladies génétiques homologues humaines rares et / ou complexes. De nombreux efforts ont été réalisés ces quinze dernières années pour mettre au point des outils de génétique moléculaire dédiés au génome du chien. En parallèle, notre équipe s'est investie dans la mise en place d'une biobanque de prélèvements de chiens, Canis-DNA, permettant ainsi la collection d'échantillons de chiens de races atteints par des maladies génétiques et de chiens témoins, indemnes. Cette ressource, mise en place au CNRS de Rennes depuis 2003, s'est appuyée sur un réseau vétérinaire national, incluant les praticiens, les laboratoires d'histopathologie vétérinaire, les cliniques et hôpitaux spécialisés, les centres de cancérologie et d'imagerie .... Depuis 2012, une convention cadre établie par le CNRS de Rennes, avec les 4 Ecoles Nationales Vétérinaires (Alfort, Nantes, Lyon, Toulouse) et la société de génétique animale Antagene (Lyon) donne une dimension nationale à cette bio-banque. De plus, Canis-DNA fait partie intégrante du projet CRB-Anim, obtenu en 2012 : projet français, financé dans le cadre des projets « Investissements d'avenir », piloté par l'ANR et ayant pour objectif de rassembler les Biobanques d'animaux domestiques. Canis-DNA apporte dans ce contexte la valence biomédicale.

Canis-DNA contient des prélèvements de sang et de tissus de chiens de toutes races, accompagnés de leurs données généalogiques, phénotypiques et cliniques. L'objectif principal est d'extraire les ADN et ARN à partir de ces prélèvements et de stocker les échantillons correspondant, pour les distribuer sous contrôles qualité à la communauté internationale.

À ce jour, Canis-DNA contient 20 000 échantillons d'ADN extraits à partir de sang dont 12 000 ADN stockés sur le site rennais, 6000 à Antagene et 2000 dans les ENV. De plus, plus de 1000 échantillons de tissus (essentiellement des paires de tissus tumoraux/tissus sains) ont été extraits en ADN et ou ARN. Cette ressource représente environ 300 races de chiens, et plus d'une centaine de maladies génétiques homologues humaines, y compris de nombreux types de tumeurs homologues (mélanomes, sarcomes, lymphomes, gliomes ... ) ainsi que de nombreuses maladies « monogéniques », souvent rares chez l'Homme, mais fréquentes dans une race canine donnée, comme des génodermatoses, neuropathies, épilepsies, rétinopathies, anomalies du développement....

Cette ressource, unique en France, est disponible à la communauté scientifique pour des projets en génétique vétérinaire et humaine et est actuellement utilisée et distribuée dans le cadre de projets collaboratifs français, européens et aux Etats-Unis.

Des échantillons sont disponibles sur demande via le site <http://dog-genetics.genouest.org> et à l'adresse: [canis-dna@univ-rennes1.fr](mailto:canis-dna@univ-rennes1.fr).

**Mots-clefs :** Ressources biologiques, Modèle spontané, Chien

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A132/#245

### Vectorisation d'information génétique par les microparticules (MPs) et rôle du transfert de miARNs sur la fonction endothéliale au cours de l'infection par le VIH-1

Estelle Balducci (1), Romaric Lacroix (1), Isabelle Poizot-Martin (2, 3), Stéphane Robert (1), Olivia Faucher (2), Joëlle Micalef (4), Elisabeth Jouve (4), Elise Kaspi (5), Nicolas Levy (5), Pierre Cau (5), Françoise Dignat-George (1), Patrice Roll (5)

1. INSERM UMR\_S1076, Faculté de Pharmacie, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Service d'Immuno-Hématologie Clinique, CHU Sainte-Marguerite, AP-HM, Marseille, France
3. INSERM U912 (SESSTIM), Aix Marseille Université, Marseille, France
4. CIC-UPCET, Hôpital Timone, AP-HM, Marseille, France
5. INSERM UMR\_S910, Faculté de Médecine – Aix Marseille Université, Marseille, France

**Auteur correspondant :** ROLL Patrice (patrice.roll@univ-amu.fr)

Les patients infectés par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) présentent un état inflammatoire chronique, même sous traitement antirétroviral efficace. Cette inflammation contribue à altérer le pronostic à long terme, notamment en favorisant le vieillissement accéléré et la survenue de pathologies multiples apparaissant plus précocement que dans la population générale. L'infection par le VIH est notamment associée à une mortalité accrue par accidents cardiovasculaires en raison d'une augmentation de la prévalence des lésions d'athérosclérose et des accidents vasculaires, de survenue précoce (avant 50 ans). Les microparticules (MPs) sont des vésicules membranaires reconnues comme de véritables entités subcellulaires capables de moduler de nombreuses fonctions biologiques. Des études ont montré que les MPs contiennent du matériel génétique de type microARN (miARN) provenant de la cellule d'origine qui pourrait être transféré et exercer un effet biologique au niveau des cellules cibles.

L'objectif de notre étude est de démontrer le rôle des MPs comme vecteurs de miARNs capables de moduler les réponses physiopathologiques au cours de l'infection par le VIH. Notre hypothèse est que la vectorisation des miARNs par les MPs permettrait aux lymphocytes TCD4+, infectés par le VIH-1, de contrôler à distance l'expression de nombreux gènes dans les cellules endothéliales et d'en moduler leurs fonctions.

Nous avons validé un modèle de production ex vivo de MPs à partir de lymphocytes TCD4+ extraits de la circulation sanguine. Ce modèle a été appliqué à une cohorte de 2 groupes de 5 patients infectés par le VIH-1 (naïfs de traitement, charge virale (CV) plasmatique > 1000 copies/ml et traités, CV

Notre travail vise actuellement à étudier dans un modèle in vitro, l'impact du transfert via les MPs, de ces miARNs sur la fonction endothéliale.

Cette étude représente une étape clé dans l'identification de nouveaux messagers biologiques vectorisés par les MPs avec un impact physiopathologique au cours de l'infection par le VIH.

**Mots-clefs :** Microparticules, microARN, VIH

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A133/#262

### Conséquences fonctionnelles de la mutation récurrente A294V dans le gène KCNQ2, un gène majeur des encéphalopathies épileptiques précoces.

Affef ABIDI (1), Florence Molinari (2), Julie Sutera-Sardo (3), Mathieu Milh (3), Cecilia Altuzzara (4), Alexandra Afenjar (5), Diane Doummar (5), Bertrand Isidor (6), Sylvie N'Guyen (7), Estelle Colin (7), Damien Haye (8), Laurent Villard (1), Laurent Aniksteyn (2)

1. UMR\_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. UMR\_S 901, Aix Marseille Université, Marseille, France
3. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France
4. Service de génétique et de neurologie pédiatrique, CHU besançon, Besançon, France
5. Service de neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
6. Service de génétique et de neuropédiatrie, CHU Nantes, Nantes, France
7. Service de génétique et de neuropédiatrie, CHU Angers, Angers, France
8. Service de génétique et de neuropédiatrie, CHU Tours, Tours, France

**Auteur correspondant :** ABIDI Affef (affef.abidi@univ-amu.fr)

Les encéphalopathies épileptiques précoces (EEP) sont un type d'épilepsies rares et très sévères du nourrisson. Elles sont caractérisées par des crises fréquentes, qui débutent dans les premières semaines de vie, associées à un tracé EEG altéré, pouvant aller jusqu'au tracé de type « suppression burst ». Ces EEP ont un impact majeur sur les fonctions cérébrales avec une atteinte cognitive et motrice importante. La clinique des EEP est très variable tant au niveau des manifestations électriques qu'en termes physiopathologiques. Le pronostic est très défavorable puisque ces épilepsies sont résistantes à tous les traitements disponibles.

Nous disposons d'une cohorte de 105 patients atteints d'EEP sans malformation corticale ni maladie métabolique. Nous avons pu mettre en évidence, chez 16 de nos patients (15,2 %) 14 mutations de novo différentes dans le gène KCNQ2. Ce gène code pour une sous-unité d'un canal potassique formée de 6 segments transmembranaires qui, associé à la sous-unité KCNQ3, va porter le courant Im. Ce courant de cinétique lente s'active à partir d'un potentiel juste sous le seuil de genèse du potentiel d'action, et agit comme un frein à la décharge réduisant ainsi l'excitabilité neuronale. Des mutations de KCNQ2 sont déjà impliquées dans une forme transitoire d'épilepsie, les épilepsies familiales néonatales bénignes (BFNS), dont le pronostic est favorable sur le plan cognitif et moteur. Nos mutations sont localisées dans le pore du canal (S5-S6), à la différence des mutations BFNS situées en S4 ou en C-terminal, régions impliquées dans la voltage-dépendance du canal. Afin de comprendre les mécanismes qui pourraient expliquer l'existence de phénotypes cliniques si différents pour ce gène, nous avons entrepris une étude fonctionnelle du canal muté.

Nous avons choisi d'étudier la mutation A294V, présente chez 5 de nos patients aux phénotypes cliniques très similaires. Des cellules CHO transfectées par des plasmides codants pour KCNQ2 sauvage (WT) ou muté (A294V), avec ou sans KCNQ3, ont généré les résultats suivants: I) Exprimé sous forme homomérique, KCNQ2A294V ne génère aucun courant; II) L'association KCNQ2WT/KCNQ2A294V génère un courant similaire à celui observé avec l'homomère KCNQ2WT seul; III) En association avec KCNQ3, la densité de courant est très largement réduite (~80%) par la présence de la mutation. Cette diminution du courant Im est liée soit à une diminution de la conductance du canal, soit à une diminution dans l'expression des canaux à la membrane.

Des études sont prévues pour déterminer si le courant est plus fortement affecté sous la configuration KCNQ2WT/KCNQ2A294V/KCNQ3, que dans les BFNS (~25% de réduction). Ces résultats pourraient expliquer les différences cliniques majeures entre ces deux pathologies. Des mutations supplémentaires sont en cours d'analyse, et nous allons initier une étude sur ces

canaux mutés pour identifier de nouveaux agents thérapeutiques qui font cruellement défaut pour les patients EEP.

**Mots-clefs :** Encéphalopathies épileptiques précoces, Syndrome d'Ohtahara, KCNQ2

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A134/#319

### Caractérisation, dans la Drosophile, des mécanismes moléculaires à l'origine de la toxicité des mutations du gène TARDBP

Tracey Avequin (1), Laetitia Miguel (2), Thierry Frébourg (2), Dominique Campion (2), Magalie Lecourtois (2)

1. Inserm U1079, de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Rouen, France  
2. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Lecourtois Magalie (magalie.lecourtois@univ-rouen.fr)

La protéine TAR DNA-binding protein-43 (TDP-43) a récemment été identifiée comme étant le constituant majeur des inclusions retrouvées chez de nombreux patients atteints de sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou de dégénérescence lobaire frontotemporale avec inclusions ubiquitine positives (DLFT), la seconde cause de démence précoce après la maladie d'Alzheimer. Dans les conditions physiologiques, la protéine TDP-43 est ubiquitaire et retrouvée majoritairement dans le noyau. Cette protéine multifonctionnelle a été impliquée dans le contrôle des différentes étapes de l'expression génique (transcription, épissage, maturation, transport et traduction de l'ARNm). Si l'identification de mutations du gène codant TDP-43 chez des patients avec SLA ou DLFT a permis de démontrer que l'altération de la protéine est suffisante pour induire une neurodégénérescence, les bases moléculaires qui sous-tendent la toxicité de TDP-43 et la pathogénicité des mutations TDP-43 demeurent incertaines.

Des études récentes menées dans des lignées cellulaires et dans des fibroblastes provenant de patients avec SLA montrent que la présence de mutations augmente la demi-vie de la protéine TDP-43, suggérant qu'une stabilité anormale de la protéine pourrait participer aux mécanismes sous-jacents à la neurotoxicité TDP-43.

Dans le but d'appréhender ces aspects in vivo, nous avons généré de nouvelles lignées transgéniques de Drosophile capables d'exprimer, grâce au système binaire d'expression Gal4/UAS, la protéine TDP-43 humaine sous sa forme sauvage ou portant des mutations identifiées chez des patients atteints de SLA ou de DLFT. Nos premières analyses quantitatives du niveau d'accumulation de ces différents variants de TDP-43 ne nous ont pas permis de mettre en évidence de différence significative entre la forme sauvage et les formes avec mutations, et ce dans différents tissus testés, suggérant que la toxicité accrue des mutations par rapport à la forme sauvage ne s'explique pas par une simple augmentation de la stabilité des protéines.

**Mots-clefs :** TDP-43, dégénérescence lobaire frontotemporale, sclérose latérale amyotrophique

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A135/#358

### La répression transitoire d'abhd12 du poisson zèbre fournit un modèle d'étude de l'ataxie récessive de type PHARC

Angèle Tingaud-Sequeira (1), Demetrio Raldúa (2), Guilaine Mathieu (1), Pierre Rambeau (1), Anja Knoll-Gellida (1), Michèle André (1), Cyril Goizet (1), Patrick J. Babin (1)

1. Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA 4576, Université de Bordeaux, Talence, France  
2. IDAEA-CSIC, Barcelona, Espagne

**Auteur correspondant :** Babin Patrick J. (p.babin@gpp.u-bordeaux1.fr)

**Introduction :** Des travaux récents ont montré une liaison entre des mutations du gène ABHD12 et des symptômes liés à une maladie neurodégénérative récessive autosomique dénommée PHARC (Polyneuropathy, Hearing loss, Ataxia, Retinitis pigmentosa, Cataract). Bien qu'ABHD12 soit soupçonné de jouer un rôle dans la voie de la lysophosphatidylsérine et/ou des endocannabinoïdes, son rôle fonctionnel exact menant à la maladie PHARC reste à élucider.

**Méthodes et résultats :** Le gène abhd12 de poisson zèbre a été identifié sur la base d'une identité élevée de séquence de la protéine déduite et d'une conservation synténique des gènes. La RT-PCR a démontré une expression ubiquitaire d'abhd12 au cours du développement embryonnaire et larvaire et dans plusieurs tissus de l'adulte. Cependant, l'hybridation in situ sur des coupes histologiques de l'adulte a démontré un haut niveau de transcrits abhd12 dans le système nerveux central et en particulier au niveau du tractus optique et dans la moelle épinière. Par immuno-colocalisation avec la MBP, ABHD12 semble être exprimée par les oligodendrocytes. Par ailleurs, le phénotype des morphants abhd12 obtenus, à l'aide d'oligonucléotide morpholino antisens (MO) spécifiques, montrent une bonne ressemblance avec certaines des caractéristiques du syndrome PHARC. Une forte perturbation de l'architecture de la rétine et les défauts du cristallin sont observés. Les neuromastes, qui font partie du système innervé mécano sensoriel de la ligne latérale et qui contiennent des cellules ciliées très similaires aux cellules sensorielles de l'oreille interne, sont altérés en taille et en nombre chez les morphants. Des défauts du développement du cervelet et de la myélinisation ont également été observés. Enfin, les morphants abhd12 présentent des déficiences à différents niveaux du système moteur et des déficits fonctionnels concomitants caractérisés par une ataxie progressive et une altération de la capacité motrice. Les caractéristiques phénotypiques du syndrome PHARC des morphants abhd12 ont été corrigées par l'introduction d'ARNm codant pour une ABHD12 humaine non mutée.

**Conclusion :** Nos résultats ont montré que le profil d'expression d'abhd12 du poisson zèbre et le phénotype des morphants induits par MO étaient compatibles avec les symptômes PHARC. Ces résultats suggèrent que le poisson zèbre peut être utilisé comme un modèle animal approprié pour l'étude de la déficience fonctionnelle et du traitement thérapeutique potentiel de cette maladie neurodégénérative rare.

**Soutiens :** P.J.B. est soutenu financièrement pour ce travail par l'ANR (2010BLAN 1126 01/LIGENAX) et l'AFM (MNM2 2012 14879).

**Mots-clefs :** Maladie neurodégénérative rare, PHARC, Ataxie

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A136/#384

### Etudes transcriptomiques sur tissu myocardique de modèles animaux porcins chroniques de Tétralogie de Fallot opérée

Sabine CHARRON (1), Francois ROUBERTIE (1), David BENOIST (1), Virginie DUBES (1), Olivier BERNUS (1), Michel HAISSAGUERRE (1), Pierre BORDACHAR (1), Jean-Benoit THAMBO (1), Caroline ROORYCK THAMBO (2)  
 1. Institut de Rythmologie et Modélisation Cardiaque LIRYC, Université de Bordeaux, BORDEAUX, France  
 2. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA 4576, Université de Bordeaux, BORDEAUX, France

**Auteur correspondant :** Rooryck Thambo Caroline  
 (carolinethambo@hotmail.com)

La Tétralogie de Fallot est la plus fréquente des cardiopathies congénitales cyanogènes avec une incidence de 1/2000 naissances. La population des adultes avec Tétralogie de Fallot (TOF) opérée est en augmentation croissante du fait des très bons résultats de la chirurgie cardiaque précoce (dans la première année de vie), mais l'évolution peut être compliquée à l'âge adulte par des arythmies, des morts subites et une dysfonction ventriculaire droite voire une dysfonction biventriculaire. Pour mieux comprendre les mécanismes de ces événements cardiaques d'apparition tardive, un modèle animal chronique de TOF opérée a été établi chez le porc. Dans cette étude, nous avons utilisé des puces (microarrays) d'expression spécifiques de l'espèce porcine (Agilent Sus Scrofa V2) pour réaliser des études transcriptomiques sur les ventricules de 7 porcs Fallot-réparés (rTOF) et de 5 porcs contrôles. Tout d'abord, nous avons étudié des échantillons issus de l'endocarde de l'infundibulum du ventricule droit. Parmi les 43,603 sondes présentes sur la puce, 54 ont été jugées significativement différentes (Fold change >2 ; P < 0,05) chez les rTOF par rapport aux contrôles. L'expression de treize gènes candidats a été également explorée et confirmée par RT-qPCR. Nous notons des changements d'expression notables dans des gènes codant pour des protéines de la contraction musculaire et du transport des cations. Ces voies semblent intéressantes quant à leur implication dans les troubles du rythme et le remodelage myocardique. Secondairement, nous avons étudié des échantillons de l'endocarde du ventricule gauche et comparé les profils transcriptomiques des deux ventricules. D'autres expériences ont également été effectuées sur l'épicarde des ventricules. Ces études moléculaires ont enfin été comparées aux données électrophysiologiques et hémodynamiques enregistrées chez ces mêmes animaux au moyen d'études par cartographie optique sur cœurs perfusés et IRM in vivo. Ces études transcriptomiques visent à découvrir la séquence des événements moléculaires et les voies de signalisation liées au remodelage des ventricules menant aux arythmies et à la dysfonction ventriculaire chez les patients avec TOF opérée. L'amélioration des connaissances de ces mécanismes pourrait mener à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques permettant de mieux traiter ces patients.

**Mots-clefs :** Tétralogie de Fallot, transcriptome cardiaque, cardiogénétique

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A137/#400

### Analyse transcriptionnelle de patients atteints de syndromes progéria-like liés à l'expression de prélamine(s) A tronquée(s)

Florian Barthélémy (1,2), Claire Navarro (1,2), Racha Fayek (1,2), Nathalie Da Silva (1,2), Patrice Roll (1,2,3), Sabine Sigaudy (2,3), Junko Oshima (4), Gisèle Bonne (5,6,7), Kyriaki Papadopoulou-Legbelou (8), Athanasios E Evangelou (8), Martha Spilioti (9), Martine Lemerrer (10), Ron A. Wevers (11), Eva Morava (11), Nicolas Lévy (1,2,3), Marc Bartoli (1,2,3), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1,2,3)

1. Aix Marseille Université, GMGF, Marseille, France
2. Inserm UMR\_S 910, Marseille, France
3. Département de Génétique Médicale et Biologie Cellulaire, Hôpital d'Enfants la Timone, Marseille, France
4. Department of Pathology, University of Washington, Seattle, USA
5. Inserm U974, Paris, France.
6. UM 76, CNRS, UMR 7215, Institut de Myologie, Université Pierre et Marie Curie- Paris 6, Paris, France.
7. Service de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France.
8. 4th Department of Pediatrics of the Aristotle University of Thessaloniki, Papageorgiou Hospital, Thessaloniki, Greece
9. 1st Department of Neurology of the Aristotle University of Thessaloniki, AHEPA Hospital, Thessaloniki, Greece
10. Département de génétique, IFR 94, Institut de Recherche Necker Enfants Malades, Hôpital Necker, Paris, France
11. Department of Laboratory Medicine, IGMD, Nijmegen, the Netherlands

**Auteur correspondant :** De Sandre-Giovannoli Annachiara  
 (annachiara.desandre-giovannoli@univ-amu.fr)

Les syndromes de vieillissement prématurés d'origine génétique sont des pathologies rares mimant des aspects cliniques et moléculaires du vieillissement physiologique. Ils sont associés à de nombreuses altérations des fonctions nucléaires. En particulier, la Progéria de Hutchinson-Gilford (HGPS, OMIM #176670), associée à des mutations du gène LMNA codant les lamines A et C, est l'un des syndromes de vieillissement prématuré les mieux caractérisés au niveau moléculaire. En conditions physiologiques, le pré-ARNm de LMNA subit un épissage alternatif induisant la synthèse de deux isoformes majeurs, la prélamine A (précurseur de la lamine A) et la lamine C. Différents transcrits tronqués de prélamine A (prélamine Delta50, prélamine Delta35 et prélamine Delta90) ont été impliqués dans la physiopathologie des syndromes progéroïdes liés aux lamines. Ainsi, dans les HGPS classiques, la plupart des patients présentent une mutation hétérozygote de novo dans l'exon 11 (p.G608G) aboutissant à une délétion issue d'un épissage aberrant, respectant le cadre de lecture, et induisant la production de la prélamine AD50, aussi appelée progérine. Cette protéine tronquée possède un groupement farnésyl fixé à son extrémité C-terminale entraînant un ancrage permanent à l'enveloppe nucléaire, et exerçant des effets toxiques dominants négatifs sur de multiples fonctions nucléaires.

Le but de ce travail était de caractériser les différents transcrits tronqués de la prélamine A produits dans les lignées cellulaires de huit malades atteints de syndromes de type progéria-like, dus à des mutations hétérozygotes du gène LMNA. Lorsque nous disposons de fibroblastes dermiques, nous avons étudié les relations entre le ratio d'expression des différents transcrits et (i) le polymorphisme rs4641 rapporté comme influençant l'expression des lamines A et C, (ii) la production des protéines correspondantes, (iii) le phénotype nucléaire, et (iv) la sévérité clinique. Nous rapportons l'expression du transcrit additionnel prélamine Delta90 chez la majorité des malades étudiés et discutons l'influence globale qu'exerce l'ensemble des transcrits tronqués de la prélamine A sur le phénotype clinique. La caractérisation transcriptionnelle de ces mutations permettra par ailleurs d'évaluer l'efficacité de futures approches thérapeutiques de type antisens chez ces patients.

**Mots-clefs :** LMNA, Progéria-like, épissage anormal



## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A138/#416

### Absence de réponse thérapeutique au traitement par sirolimus chez un patient présentant une cardiomyopathie hypertrophique sévère dans le cadre d'un syndrome LEOPARD.

Marjolaine WILLEMS (1), Marie VINCENTI (2), Sophie GUILLAUMONT (2), Grégoire DE LA VILLEON (2), Catherine BLANCHET (3), Gilles CAMBONIE (4), Jean-Marc COSTA (5), Odile PLAN (4), David GENEVIEVE (1)

1. Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

2. Service de Cardiologie Pédiatrique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

3. Département d'ORL, Hôpital Gui-de-Chauliac, Montpellier, France

4. Service de Pédiatrie Néonatale et Réanimations, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

5. Département de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen-L'Aumône, France

**Auteur correspondant :** WILLEMS Marjolaine (m-willems@chu-montpellier.fr)

Nous rapportons le cas d'un patient âgé d'un an, présentant une cardiomyopathie hypertrophique globale extrêmement précoce et sévère dans le cadre d'un syndrome LEOPARD par néomutation p.Gln510Glu du gène PTPN11, chez qui un traitement par sirolimus durant 9 mois n'a entraîné aucune modification clinique ni échocardiographique.

Il s'agit du premier enfant de parents sains et non apparentés. L'échographie réalisée à 22 SA révélait une hypertrophie myocardique globale isolée. Devant l'association d'une clarté nucale au premier trimestre à 2,8 mm, d'un âge paternel élevé, de biométries céphaliques au 90e percentile, le diagnostic de RASopathie a été suspecté. Une amniocentèse a été effectuée, afin notamment d'écarter des diagnostics différentiels, permettant d'identifier la mutation p.Gln510Glu du gène PTPN11 survenue de novo. Seuls trois cas ont été rapportés dans la littérature, constamment associés à une cardiomyopathie hypertrophique très sévère. Les parents ont souhaité poursuivre la grossesse.

A la naissance, l'enfant était eutrophe. Une surdité de perception profonde et bilatérale a été suspectée puis confirmée à 3 mois de vie. Il existait une cardiomyopathie hypertrophique globale, sévère et obstructive, ne permettant pas d'envisager de geste chirurgical à type de septotomie, non améliorée par bêta bloquants.

Un traitement expérimental par sirolimus a été proposé à un mois de vie après discussion multidisciplinaire sur la base de données de la littérature mentionnant une efficacité in vitro et in vivo sur un modèle murin transgénique surexprimant la mutation pGln510Glu du gène PTPN11, ainsi que sur les rhabdomyomes de patients présentant une sclérose tubéreuse de Bourneville. Il n'existait pas d'alternative thérapeutique et le rapport bénéfice/ risque semblait positif eu égard à la relative bonne tolérance chez les rares nourrissons traités par sirolimus dans le cadre de greffe d'organe solide. Il a été administré durant 9 mois, avec ajustement de la posologie en fonction du poids et du dosage sérique de sirolimus (dose de 1,15 mg/m<sup>2</sup>/jour). Durant cette période, le nourrisson a présenté deux épisodes de gastro-entérite dont un sévère à 7 mois de vie. La prise de poids initiale était satisfaisante jusqu'à 5 mois de vie puis a stagné ensuite. Il n'y a eu aucune évolution de la cardiomyopathie hypertrophique sous traitement, avec absence de complication rythmique. Les parents ont souhaité interrompre le traitement à 9 mois de vie, ce qui a été suivi d'une meilleure prise de poids et d'une stabilité de la cardiomyopathie.

Les progrès actuels du diagnostic moléculaire et la compréhension des bases physiopathologiques des maladies génétiques laissent augurer de progrès thérapeutiques par utilisation de molécules spécifiques permettant de moduler l'activité de voies de signalisation

ou métaboliques dérégulées. Cependant l'extrapolation des résultats obtenus à partir de modèles murins peut se révéler décevante.

**Mots-clefs :** Cardiomyopathie hypertrophique, Syndrome LEOPARD, Sirolimus

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A139/#511

### Rapamycin shortens survival in progeria LmnaG609G/G609G mice.

Claire Navarro (1), Fernando G. Osorio (2), Catherine Bartoli (1), Danielle Depetris (1), Nathalie Da Silva (1), Pierre Cau (3), Annachiara De Sandre-Giovannoli (4), Carlos Lopez-Otin (2), Nicolas Lévy (4)

1. (1) UMRS\_910, GMGF, Université aix-marseille, marseille, France
2. (2) Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Oviedo, Oviedo, Espagne
3. (1) UMRS\_910, GMGF, Aix marseille université, (3) Département de biologie cellulaire, Hôpital de la Timone, marseille, France
4. (1) UMRS\_910, GMGF, Aix marseille université, (4) Département de génétique médicale, Hôpital de la Timone, marseille, France

**Auteur correspondant :** Navarro claire (claire.navarro@univ-amu.fr)

La Progéria de Hutchison-Gilford (HGPS) est une pathologie extrêmement rare, caractérisée par un vieillissement accéléré entraînant le décès à un âge moyen de 13.5 ans, le plus souvent par infarctus du myocarde. La mutation majoritairement responsable de cette pathologie est une substitution (c.1824C>T, p.Gly608Gly) localisée dans l'exon 11 du gène LMNA, codant les lamines de type A, filaments intermédiaires nucléaires impliquées dans le maintien de la structure nucléaire ainsi que dans de nombreuses autres fonctions cellulaires majeures. La mutation c.1824C>T, active un site cryptique d'épissage ayant pour conséquence la production d'une protéine délétée de 50 acide aminés appelée progerine. Son accumulation dans les cellules de patients, sous une forme de précurseur farnésylé, exerce de nombreux effets toxiques.

Récemment, en se basant sur le fait que la rapamycine, un inhibiteur de mTOR activant l'autophagie, est connue pour étendre la longévité chez la levure et les mammifères, une équipe américaine a montré ses effets bénéfiques in vitro sur les cellules de patients HGPS. Ils ont en effet démontré qu'en activant l'autophagie, la rapamycine augmentait la clairance de la progerine.

Cependant, le rationnel de l'utilisation de la rapamycine, connue également pour ses effets hypercholestérolémiants et immunosuppresseurs, chez des enfants progéria, peut être largement discutée. Afin d'évaluer une possible toxicité de la rapamycine, dans le contexte précis de la progéria, une étude in vivo a été réalisée sur un modèle murin mimant la progéria et créé au laboratoire: Le modèle KI LmnaG609G. Un groupe de souris homozygotes LmnaG609G/G609G a été traité quotidiennement avec une solution de rapamycine à 10mg/Kg par injection intrapéritonéale et les résultats obtenus ont été comparés à un groupe placebo.

Cette étude a mis en évidence que i) la rapamycine n'avait aucun effet bénéfique sur la durée de vie. Au contraire, un effet toxique a été observé avec une réduction de la durée de vie de 30 jours en moyenne; ii) à 3 mois, les souris traitées présentent un poids significativement réduit en comparaison aux souris placebo; iii) enfin, in vivo, aucune diminution de progerine n'a pu être observée, dans aucun des tissus testés. Il a par ailleurs été observé une augmentation significative de la senescence induite par la rapamycine ainsi qu'une augmentation de l'expression des lamines A/C et de la progerine dans plusieurs tissus.

Nos résultats sont donc en défaveur de l'utilisation de la rapamycine chez les enfants atteints de Progéria. De manière plus alarmante, un effet toxique de cette molécule a été mis en évidence in vivo (KI LmnaG609G). Il est indispensable que les effets de la rapamycine soient étudiés de manière plus complète avant toute utilisation en phase clinique, en utilisant notamment certains de ses analogues potentiellement moins toxiques.

**Mots-clefs :** progeria, rapamycin, Etude pré-clinique

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A140/#521

### Présentation de l'étude ACTHYF : « Evaluation de l'efficacité d'un traitement systématique par acide folinique et hormone thyroïdienne sur le développement psychomoteur du jeune enfant trisomique 21 »

Clotilde MIRCHER (1), Aimé RAVEL (2), Nathalie DORISON (3), Oliver GREINER-MAHLER (3), Brigitte DE FRAISSE (4), Samantha STORA (5), Silvia SACCO (6), Charles BOUIS (4), Franck STURTZ (7)

1. Service recherche / Consultations, Institut Jérôme Lejeune, PARIS, France
2. Service recherche / Consultations, Institut Jérôme Lejeune, PARIS, France
3. Recherche / Consultations, Institut Jérôme Lejeune, PARIS, France
4. Recherche, Institut Jérôme Lejeune, PARIS, France
5. Laboratoire BioJeL, Institut Jérôme Lejeune, PARIS, France
6. Recherche, Institut Jérôme Lejeune, PARIS, France
7. Recherche consultations, Institut Jérôme Lejeune, PARIS, France

**Auteur correspondant :** Mircher Clotilde (cduboispean@hotmail.fr)

Le métabolisme thyroïdien semble fréquemment altéré (hypothyroïdie) chez le nouveau-né et le jeune enfant atteint de trisomie 21 (van Trostenburg et al, 2003). Par ailleurs, les folates, co-facteurs de nombreuses réactions biochimiques et dont 7 gènes siègent sur le chromosome 21, ont un métabolisme perturbé chez les patients trisomiques 21.

ENTRAIN, une étude récemment publiée (PlosOne 2010, 5:e8394), portant sur la supplémentation systématique de jeunes enfants trisomiques 21 par acide folinique (AF) à la dose de 1 mg/kg/j pendant un an, suggère, en analyse per-protocole des résultats, que le bénéfice potentiel du traitement par AF serait particulièrement net chez les patients traités simultanément par hormone thyroïdienne. Cette interaction positive n'était pas attendue et le plan de l'étude ne permettait pas d'en dire plus. Par ailleurs, une étude hollandaise suggérerait l'intérêt de compléter les jeunes patients trisomiques en hormone thyroïdienne (Thyroxine) mais n'atteignait pas la significativité (van Trostenburg et al, 2005).

L'étude ACTHYF, lancée en Avril 2012, a pour objectifs d'évaluer chez des enfants porteurs d'une trisomie 21, âgés de 6 à 18 mois, l'efficacité d'un traitement par L-thyroxine (T4) à dose contrôlée et par acide folinique (AF) à la dose de 1 mg/kg/j et l'interaction éventuelle entre ces deux traitements, sur une période d'un an.

ACTHYF, est donc une étude de Phase III, monocentrique, randomisée en double aveugle, portant sur 256 patients répartis en 4 groupes (T4, AF, T4 + AF, 2 placebo). Cette étude, a reçu les autorisations réglementaires, est supervisée par un comité indépendant de surveillance et est enregistrée à clinicaltrials.gov (NCT01576705). Le critère principal d'efficacité est l'évaluation du développement psychomoteur par l'échelle de Griffiths (GMDS), échelle d'évaluation du développement psychomoteur validée internationalement et comportant 5 sous-échelles: locomoteur, socialisation, langage, coordination, performance. Un critère secondaire est le test psychométrique de Brunet-Lézine.

A ce jour, 250 enfants ont été criblés, et 62 enfants ont été inclus. 50% environ des enfants éligibles pour l'âge n'ont pas pu être inclus : refus des familles (18%), existence d'un critère de non inclusion (35%) (prématurité trop importante, TSH >7 mUI/L, syndrome de West,...). 4 patients sont sortis de l'étude (2 pour hypothyroïdie nécessitant un traitement, un patient non-testable en V2, et un pour maladie intercurrente) et 17 patients ont déjà terminé l'étude (fin Septembre 2013). Aucun effet indésirable lié au traitement n'a été signalé.

Cet essai nous a déjà permis d'affiner notre connaissance de la trisomie 21 sur le plan médical (fonction thyroïdienne, prématurité, syndrome de West) et sur le plan du développement psychomoteur des jeunes enfants trisomiques 21.

Pour augmenter le rythme des inclusions, l'ouverture d'un 2ème centre aux USA (Université de Chicago) est à l'étude.

**Mots-clefs :** trisomie 21, essai clinique, hormone thyroïdienne, acide folinique, développement psychomoteur

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A141/#527

### miR-9 régule l'expression de la lamine A dans le cerveau du modèle murin Knock-In progéria, un mécanisme qui explique l'absence d'atteinte cognitive chez les patients

Racha Fayek (1), Claire Navarro (1), Catherine Bartoli (1), Nathalie Da Silva (1), Françoise Merono (1), Pierre Cau (1,2), Pierre Roubertoux (1), Nicolas Lévy (1,3), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1,3)  
1. GMGF, UMR\_S 910, INSERM, Aix Marseille Université, Marseille, France  
2. Département de Biologie Cellulaire, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France  
3. Département de Génétique Médicale, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** De Sandre-Giovannoli Annachiara (Annachiara.DESANDRE-GIOVANNOLI@univ-amu.fr)

La progéria de Hutchinson-Gilford est une maladie extrêmement rare caractérisée par une artériosclérose généralisée et un vieillissement prématuré. Le décès survient à l'âge moyen de 13 ans, dans le cadre d'évènements cardiovasculaires aigus. Cette maladie est causée par une mutation de novo hétérozygote dans le gène LMNA, qui code pour les lamines A et C, composants majeurs de la lamina et de la matrice nucléaire. La mutation active un site cryptique d'épissage qui cause la délétion de 150 pb dans les pré-mRNA issus de l'allèle muté, générant une lamine A anormale appelée progérine qui ne peut pas être maturée correctement et s'accumule dans les noyaux exerçant des effets toxiques. Les enfants atteints présentent les premiers signes cliniques au cours des deux premières années de vie, notamment une cassure dans les courbes de croissance. Par la suite, ils développent une atteinte systémique avec des lysses osseuses, une lipoatrophie et une atteinte cardiovasculaire, avec cependant une préservation totale des fonctions cognitives. Des études récentes, incluant une étude collaborative de notre équipe (Nissan et al. 2012), ont suggéré l'implication d'un microARN, miR-9, dans la protection du cerveau, car l'un des transcrits dont il diminue physiologiquement l'expression est celui qui code la lamine A et donc la progérine. L'objectif de cette étude était de caractériser dans un premier temps le phénotype cognitif et moteur du modèle murin KI LmnaG609G/G609G, qui reproduit les aspects moléculaires et phénotypiques de la Progéria puis d'évaluer l'expression de miR-9 (Osorio et al. 2011). Différents examens cognitifs et moteurs ainsi que des analyses volumétriques de différentes structures cérébrales par IRM, ont été effectués sur les trois génotypes du modèle KI LmnaG609G/G609G, LmnaG609G/+ et Lmna+/+. Toutes ces explorations ne permettent de mettre en évidence ni atteinte cognitive ou motrice ni anomalie de volume des structures cérébrales chez les souris LmnaG609G/G609G. En parallèle, les niveaux d'expression des lamines A, C et de la progérine ont été étudiés par western blot et immunofluorescence sur des coupes de cerveau dans différentes zones cérébrales en parallèle avec l'étude de l'expression des lamines de type B et de différents marqueurs gliaux ou neuronaux. Les résultats de cette étude montrent un faible niveau d'expression de la lamine A et de la progérine, contrairement aux lamines B qui sont bien exprimées, dans les différentes structures du cerveau. Cette diminution a pu être corrélée avec une surexpression de miR-9 dans ces mêmes régions, mesurée par RT-PCR quantitative. Cette étude montre in vivo l'implication de miR-9 dans la préservation des tissus cérébraux dans la progéria, et confirme la validité des études précédentes.

**Mots-clefs :** progéria, cerveau, miR-9

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A142/#529

### COMMD1 module l'inflammation exacerbée dans la mucoviscidose

Agathe Tarze (1,2), Alix de Becdelièvre (1,2,3), Jérémy Rocca (1,2), Abdel Aissat (1,2), Pascale Fanen (1,2,3)  
1. INSERM U955, équipe 11, GH Henri Mondor, Créteil, France  
2. Université Paris-Est, GH Henri Mondor, Créteil, France  
3. APHP, Département de génétique, GH Henri Mondor, Créteil, France

**Auteur correspondant :** Fanen Pascale (pascale.fanen@inserm.fr)

La mucoviscidose, maladie autosomique récessive mortelle, est due à des mutations du gène Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR). La principale cause de morbi-mortalité est l'atteinte pulmonaire qui se caractérise par une inflammation excessive et chronique. Une activation intrinsèque de la voie NF-κB aboutissant à l'augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires telle que l'interleukine-8 (IL-8), a été décrite chez les patients. La compréhension des mécanismes mis en jeu et la régulation de cette inflammation exacerbée sont actuellement des enjeux majeurs pour améliorer la prise en charge des patients.

Nous avons récemment montré que la protéine COMMD1 interagissait avec CFTR et régulait son expression à la surface des cellules. Cette protéine a également été décrite comme un régulateur négatif la voie NF-κB, suggérant un potentiel anti-inflammatoire dans le contexte de la mucoviscidose.

Nous avons donc étudié l'effet de sa sur- ou sous-expression dans deux modèles cellulaires bronchiques de la maladie : les lignées IB3-1 (CFTR : p.[F508del];[W1282X]) et S9 (IB3-1 corrigées par CFTR-WT) et les lignées CFBE (p.[F508del];[F508del]) et HBE ([=]). Nous avons évalué l'effet de la modulation de COMMD1 sur l'activité transcriptionnelle de NF-κB à l'aide de système rapporteur luciférase dans des conditions basale ou inflammatoire. L'effet sur l'IL-8 a été étudié au niveau de l'activité transcriptionnelle de son promoteur, de la quantité d'ARNm et de la quantité de cytokine sécrétée. Enfin, l'effet global au niveau transcriptionnel induit par l'augmentation de COMMD1 a été étudié par des puces d'expression pangénomiques dans les lignées IB3-1 et S9.

Nous avons montré que l'extinction de COMMD1 induit une augmentation de l'activité transcriptionnelle de NF-κB, tandis que sa surexpression diminue l'activité de NF-κB, la quantité d'ARNm de l'IL-8 et la sécrétion d'IL-8. L'analyse des puces d'expression a permis de dégager les réseaux de régulation et les familles de gènes modifiés par COMMD1, montrant une spécialisation dans l'inhibition de facteurs pro-inflammatoires, notamment en amont et en aval de la régulation de l'IL-8.

Nous montrons pour la première fois l'effet anti-inflammatoire de COMMD1 dans différents modèles de cellules bronchiques. Nous validons ainsi le rôle de COMMD1 en tant que potentiel gène modificateur et/ou cible thérapeutique avec des activités favorables sur deux paramètres défectueux dans la mucoviscidose : la régulation de l'expression des canaux ioniques à la membrane des épithéliums et la régulation de l'inflammation par la voie de NF-κB.

Ce projet concourt donc au décryptage des mécanismes moléculaires à la base de l'inflammation intrinsèque et extrinsèque des voies aériennes chez les patients porteurs de mutations du gène CFTR.

Ce travail a fait l'objet d'un soutien par l'association Vaincre la Mucoviscidose

**Mots-clefs :** CFTR, COMMD1, NF-κappaB, IL-8

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A143/#583

### Correction mitotique d'une trisomie 21 dans une lignée de cellules souches pluripotentes induites (iPS) dérivées d'un syndrome de Down

Annelise Bennaceur- Griscelli (1), Olivier Féraud (2), Emilie Gobbo (2), Franck Griscelli (3), Dominique Luton (4), Maria-Teresa Mitjavila-Garcia (2), Noufissa Oudrhiri (5), François Petit (6), Gérard Tachdjian (7), Lucie Tosca (7), Alexander Valent (8), Morgane Valentin (4)

1. Service d'Hématologie, INSERM UMR-S 935, ESTeam Paris-Sud, Université Paris V, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Villejuif, France
2. INSERM UMR-S 935, ESTeam Paris-Sud, Villejuif, France
3. INSERM UMR-S 935, ESTeam Paris-Sud, Université Paris V, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Service de Gynécologie, Hôpital Beaujon, Paris, France
5. Service d'Hématologie, INSERM UMR-S 935, ESTeam Paris-Sud, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Villejuif, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Clamart, France
7. Service d'Histologie Embryologie et Cytogénétique, INSERM UMR-S 935, ESTeam Paris-Sud, Université Paris-Sud, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Clamart, France
8. Service de cytogénétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

**Auteur correspondant :** Tosca Lucie (lucie.tosca@abc.aphp.fr)

La trisomie 21 est l'aneuploïdie chromosomique la plus fréquente en post-natal résultant d'une trisomie libre et complète du chromosome 21 dans la plupart des cas ou d'une translocation dans de rares cas. Environ 1 à 2% des enfants atteints du syndrome de Down présentent un mosaïcisme cellulaire dû à un événement post-mitotique. Les patients comportant une mosaïque cellulaire présentent des manifestations phénotypiques moins sévères avec un quotient intellectuel plus élevé et un taux de survie augmenté. Dans ce contexte, la correction de la trisomie 21 et les thérapies cellulaires autologues seraient des stratégies thérapeutiques de choix.

Nous avons généré trois lignées de cellules souches pluripotentes induites DS-iPS (iPS PB6, PB14, PB17) par reprogrammation de cellules amniotiques fœtales porteuses d'une trisomie 21 complète et homogène. La pluripotence des iPS a été confirmée in vitro et in vivo par la formation des tératomes. La ploïdie des iPS a été étudiée au cours des passages itératifs. La présence du chromosome 21 surnuméraire a été analysée par caryotype et par FISH. Nous avons recherché par CGH-array (135K, Nimblegen) la présence de variants d'ADN cryptiques associés.

Après plusieurs passages, nous confirmons l'existence d'une perte totale du chromosome 21 surnuméraire dans les 3 lignées DS-iPS avec un avantage sélectif de croissance des iPS devenues disomiques. La présence du chromosome Y par FISH dans la lignée iPS disomique PB6.1 et dans les amniocytes d'origine élimine l'hypothèse d'une contamination maternelle initiale. L'analyse des marqueurs microsatellites du chromosome 21 a montré une même origine parentale des lignées PB6 (47,XY,+21) et PB6.1 (46,XY) et a exclu une contamination cellulaire par une autre lignée. L'étude par CGH-array a mis en évidence une instabilité génomique pour les lignées PB6 et PB6.1. Nous montrons que l'augmentation de micronoyaux contenant entre autre le chromosome 21 est un des mécanismes de mal-ségrégation chromosomique des DS-iPS associé à une anomalie d'expression des gènes du kinétochrome.

Cette étude démontre pour la première fois que les iPS de syndrome de Down reproduisent in vitro une mal-ségrégation chromosomique spontanée conduisant à la correction de la trisomie 21. La production ex-vivo d'iPS disomiques permettrait une restauration fonctionnelle tissu-spécifique et de proposer une thérapie cellulaire autologue substitutive dans le syndrome de Down.

**Mots-clefs :** syndrome de Down, correction mitotique, cellules souches pluripotentes induites

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A144/#611

### Séquestration de la progérine dans les PML-NBs et sa dégradation par induction de l'autophagie

Karim Harhour (1), Danielle Depetris (1), Claire Navarro (1), Pierre Cau (1,2), Marie-Geneviève Mattei (1), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1,3), Nicolas Lévy (1,3)

1. INSERM, GMGF UMR\_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Laboratoire de Biologie Cellulaire, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France
3. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, APHM, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Harhour Karim (Karim.HARHOURI@univ-amu.fr)

La Progéria de Hutchinson-Gilford (HGFS) (prévalence : 1/4-8 millions) est caractérisée par un vieillissement prématuré et accéléré. Le décès survient à un âge moyen de 12,5 ans. Ce syndrome résulte d'une mutation dans l'exon 11 du gène LMNA codant les lamines A et C, induisant l'activation d'un site cryptique d'épissage, et la synthèse d'une forme tronquée et farnésylée de prélamine A (progérine). Celle-ci s'accumule avec un effet toxique dans les noyaux cellulaires, affectant la distribution et l'organisation structurale de la matrice nucléaire et de nombreuses voies de signalisation.

Les approches dédiées à la correction des anomalies biologiques et du phénotype Progéria ont été envisagées de façon qualitative et quantitative selon 3 aspects visant (i) à réduire/supprimer la toxicité de la progérine, (ii) empêcher sa production, (iii) induire sa destruction. Nous avons mis en évidence chez la souris l'efficacité d'une combinaison de deux molécules visant à réduire la toxicité de la progérine. Sur la base de cette première approche thérapeutique, un essai clinique a été conduit (De Sandre-Giovannoli, Sigaudy et al, soumis). Basée sur notre modèle murin KI LmnaG609G/G609G de Progéria, une thérapie ciblée sur la mutation, utilisant des oligonucléotides antisens a été menée afin de réduire voire empêcher la production de progérine. Un essai par thérapie génique utilisant cette approche est en cours de préparation. Nous nous sommes intéressés ici au mécanisme de l'accumulation anormale de la progérine, de sa dynamique cellulaire et de sa dégradation.

Dans des fibroblastes de patients, nous avons observé une localisation et une distribution aberrantes de la progérine, d'aspect filamenteux et augmentant au cours de la sénescence.

Une classe de corps nucléaires, les PML-NBs (ProMyelocytic Leukemia-Nuclear Bodies), sont des structures nucléaires étroitement associées à la matrice nucléaire. En analysant l'organisation des PML-NBs, nous avons observé que PML présente la même conformation, localisation et distribution que la progérine. Par microscopie confocale, nous avons établi que ces structures filamenteuses intra-nucleoplasmiques séquestrent la progérine.

En présence du composé KAN3, nous avons montré que la progérine subit une translocation nucléo-cytoplasmique impliquant une transition à travers le nucléole et aboutissant à sa localisation dans des vacuoles cytoplasmiques exprimant les marqueurs d'autophagie LC3B, p62 et LAMP-2. KAN3 induit une diminution majeure des niveaux d'expression de la progérine, accompagnée par une augmentation de l'expression des marqueurs d'autophagie. Nos résultats suggèrent que KAN3 active l'autophagie, aboutissant à la dégradation de la progérine. Ainsi, KAN3 constitue une molécule à très fort potentiel thérapeutique et nous la testons dans le modèle murin KI LmnaG609G/G609G de Progéria. La réduction in vivo des quantités de progérine constituera la preuve de principe avant d'envisager une étude chez l'homme.

**Mots-clefs :** Progérine, PML-NBs, Autophagy



## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A145/#647

### Thérapie génique par saut d'exon appliquée au syndrome de Lowe: étude de la mutation c.238+4701A>G du gène OCRL

John Rendu (1,2,3), Charles Coutton (2,4), Julie Brocard (1), Delphine Martinez (3), France Pietri Rouxel (5), Isabelle Marty (1), Julien Fauré (1,2,3)

1. Equipe Muscle et Pathologies, INSERM U836 Grenoble Institut des Neurosciences, Grenoble, France, Grenoble, France
2. Université Joseph Fourier, UDG, Grenoble, France
3. Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU-Grenoble, Grenoble, France
4. Département de Génétique et Procréation, CHU-Grenoble, Grenoble, France
5. Institut de Myologie - U974, UPMC, Paris, France

**Auteur correspondant** : rendu john (jrendu@chu-grenoble.fr)

Le syndrome de Lowe est une maladie sévère liée à l'X causé par la présence de mutation dans le gène OCRL (OMIM: 300535) codant pour une Phosphatidyl inositol 4,5-biphosphate 5-Phosphatase. Ce syndrome est caractérisé par une cataracte congénitale bilatérale, un déficits intellectuels, des troubles comportementaux et un dysfonctionnement rénal sévère.

La protéine OCRL fait partie du réseau des kinases et phosphatases régulant le pool des phosphoinositides dans les compartiments sub-cellulaires. Une fonction d'OCRL, récemment mis en évidence, est en lien avec la croissance du cil primaire.

Les différentes études génétiques réalisées sur les patients atteints du syndrome de Lowe ont montré que 80% des mutations sont des faux sens et des non sens. Néanmoins 15% des mutations ont un impact sur l'épissage des transcrits d'OCRL.

Un des patients atteints de syndrome de Lowe étudiés au laboratoire est porteur d'une mutation intronique profonde: la c.238+4701 A>G du gène OCRL. La mutation crée un site donneur d'épissage qui révèle un site cryptique accepteur dans l'intron 4 du gène OCRL, conduisant à l'inclusion d'un pseudo-exon de 66nt responsable d'une chute du taux de la protéine à l'origine de la pathologie.

Le but de ce projet est de montrer que la correction de cette mutation par une stratégie de saut d'exon, permet de restaurer la production d'un ARNm sain dans les cellules fibroblastiques du patient mis en culture ainsi qu'une restauration de l'expression de la protéine OCRL.

Afin de réaliser le saut du pseudo-exon, nous avons tout d'abord choisi des Oligonucleotides antisens (2'OMe AONs) dirigés contre la séquence du pseudoexon. Nous les avons ensuite transfecté dans les fibroblastes du patient. L'efficacité des différents antisens (AONs) étudié par RT-PCR. La séquence des AONs les plus efficaces ont été intégrés dans une cassette U7 snRNA afin d'améliorer le saut d'exon. Cette cassette fut ensuite vectorisée dans un lentivirus et exprimée dans les fibroblastes du patient.

L'épissage normal fut partiellement restauré permettant ainsi une réexpression de la protéine ainsi qu'un retour de la fonctionnalité de celle-ci, évaluée par la mesure du cil primaire.

Ce travail est la première démonstration expérimentale d'une stratégie de saut d'exon pour le syndrome de Lowe et ouvre des perspectives thérapeutiques pour ce syndrome actuellement sans traitement.

**Mots-clefs** : Lowe syndrome, OCRL, exon skipping saut d'exon

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A146/#660

### L'étude de l'atteinte rénale dans un modèle de souris Bbs12-/- révèle un défaut de détection de l'hormone Arginine vasopressine

NOELLE COGNARD (1), CHARLIE DE MELO (1), HELENE DOLLFUS (2), VINCENT MARION (3), CATHY OBRINGER (1), CORINNE STOETZEL (4)

1. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, HOPITAUX UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG, STRASBOURG, France
2. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, UNIVERSITE DE STRASBOURG, STRASBOURG, France
3. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, INSERM, STRASBOURG, France
4. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, UNIVERSITE DE STRASBOURG, STRASBOURG, France

**Auteur correspondant** : obringer cathy (cathy.obringer@chru-strasbourg.fr)

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) est une ciliopathie emblématique caractérisée par l'association d'une dystrophie rétinienne, d'une polydactylie post-axiale, d'une obésité, d'une atteinte rénale, d'un hypogonadisme et de troubles cognitifs. Il se transmet selon un mode autosomique récessif et est génétiquement très hétérogène puisqu'à ce jour 18 gènes BBS ont été identifiés (BBS1 à BBS18). Afin de mieux comprendre les origines de la pathologie rénale dans le BBS, nous avons utilisé notre modèle murin inactivé pour le gène BBS12 (Bbs12-/-). A douze semaines, les souris présentaient une fonction rénale maintenue, les cellules épithéliales rénales étaient normalement ciliées et les reins ne présentaient pas lésions kystiques. Néanmoins, les niveaux d'expression du récepteur à l'hormone antidiurétique Arginine vasopressine, ainsi que le canal à eau, l'aquaporine 2 étaient diminués du fait d'une activation d'un stress du réticulum endoplasmique, l'unfolded protein response. Les troubles de concentration urinaire caractéristiques de l'atteinte rénale du BBS auraient donc pour origine une diminution de la capacité à détecter l'hormone antidiurétique au niveau de l'épithélium rénal

**Mots-clefs** : ciliopathies, syndrome de Bardet Biedl, atteinte rénale

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A147/#680

### Prévalence des mutations KCNJ5, CACNA1D, ATP1A1 et ATP2B3 dans les adénomes produisant de l'aldostérone

Laurance Amar (1), Sheerazed Boulkroun (1), Fabio Fernandes Rosa (1), Xavier Jeunemaitre (1), Benoit Samson-Couterie (2), Maria-Christina Zennaro (1)

1. INSERM, UMRS\_970, Paris Cardiovascular Research Center; Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité; Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France

2. INSERM, UMRS\_970, Paris Cardiovascular Research Center; Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, PARIS, France

**Auteur correspondant :** Fernandes Rosa Fabio (fabio.fernandes-rosa@inserm.fr)

L'hyperaldostéronisme primaire (HAP) est la forme la plus fréquente d'hypertension artérielle secondaire. Récemment, des mutations somatiques dans les gènes KCNJ5 (codant pour le canal potassique GIRK4), ATP1A1 (codant pour la sous-unité  $\alpha 1$  de la Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase), ATP2B3 (codant pour la pompe calcique membranaire PMCA3) et CACNA1D (codant pour une sous-unité du canal calcique Cav1.3) ont été décrites dans les adénomes produisant de l'aldostérone (APA). Le but de cette étude était d'étudier la prévalence de ces mutations somatiques chez des patients non sélectionnés présentant un HAP. Le séquençage des gènes KCNJ5, ATP1A1, ATP2B3 et CACNA1D a été réalisé à partir de l'ADN somatique de 207 patients avec HAP recueillis par le réseau COMETE (Cortico et Médullo-surrénale : les Tumeurs Endocrines). Des mutations somatiques hétérozygotes du gène KCNJ5 (p.Gly151Arg ou p.Leu168Arg) ont été trouvées dans 36% des APA (74 sur 207). Nous avons également identifié 2,5% (5 sur 207) de mutations somatiques ATP1A1 (p.Leu104Arg ou p.Phe100\_Leu104del) et 1% (2 sur 207) de mutations ATP2B3 (p.Val424\_Leu425del ou p.Leu425\_Val426del). Des mutations somatiques du gène CACNA1D précédemment décrites (p.Val259Asp, p.Gly403Arg, p.Phe747Leu, p.Ile750Met, p.Pro1336Arg ou p.Val1338Met) ont été trouvées dans 20 des 207 APA. De plus quatre nouvelles mutations somatiques de ce gène (p.Val979Asp, p.Lys981Asn, p.Ala998Val ou p.Ala998Ile) ont été identifiées dans 6 APA, soit une prévalence totale de mutations CACNA1D de 12% (26 sur 207). Les mutations KCNJ5 sont significativement plus fréquentes chez les femmes (71% de femmes contre 29% d'hommes) en comparaison aux mutations CACNA1D (36,8% de femmes et 63,2% d'hommes, P

**Mots-clefs :** hyperaldostéronisme primaire, adénomes produisant de l'aldostérone, KCNJ5, CACNA1D, ATP1A1 et ATP2B3

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A148/#691

### Un défaut d'épissage de BIN1 cause une myopathie centronucléaire chez l'homme et le chien

Johann Bohm (1), Nasim Vasli (1), Marie Maurer (2), Belinda Cowling (1), Diane Shelton (3), Laurent Tiret (2), Jocelyn Laporte (1)

1. Dpt Translational medicine, IGBMC, Illkirch, France

2. UMR955, Ecole Nationale Veterinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

3. Department of Pathology, University of California, San Diego, USA

**Auteur correspondant :** Laporte Jocelyn (jocelyn@igbmc.fr)

L'amphiphysine 2, codée par le gène BIN1, est un facteur clé pour le remodelage membranaire dans différents types cellulaires. Des mutations homozygotes de BIN1 dans des exons exprimés de manière ubiquitaire sont associées à une forme de myopathie centronucléaire autosomique récessive (CNM), avec une faiblesse musculaire stable et un positionnement anormal des noyaux dans les fibres musculaires. En outre, une dérégulation de l'épissage de BIN1 explique en partie les défauts musculaires retrouvés dans une autre myopathie, la dystrophie myotonique (DM). Cependant, la fonction spécifiquement musculaire de l'amphiphysine 2 et la physiopathologie des deux maladies associées ne sont pas bien comprises. Dans cette étude, nous avons identifié et caractérisé la première mutation affectant l'épissage de l'exon 11 muscle spécifique de BIN1 dans une famille consanguine avec une forme différente de myopathie centronucléaire rapidement progressive et mortelle. En parallèle, nous avons découvert qu'une mutation du même site d'épissage de l'exon 11 de BIN1 est à l'origine de la myopathie héréditaire des Dogues Allemands (IMGD). L'analyse de l'ARN du muscle de patients a démontré un saut complet de l'exon 11 et des constructions de BIN1 sans exon 11 sont incapables de promouvoir le remodelage des membranes dans des myotubes différenciés. Les analyses d'immunofluorescence et de microscopie électronique comparées des biopsies de patients et de chiens révèlent des défauts structurels communs, soulignant l'importance de l'amphiphysine 2 dans le remodelage et la maintenance de la triade du muscle squelettique, importante pour la régulation calcique. Nos données montrent que l'altération de la fonction spécifiquement musculaire de BIN1 est un mécanisme pathologique commun pour la myopathie centronucléaire, la dystrophie myotonique, et la myopathie IMGD des Dogues Allemands. Il souligne également le potentiel synergique de comparer les maladies humaines et canines afin d'identifier leurs causes moléculaires et de mieux comprendre les mécanismes pathologiques. Le chien IMGD est le premier modèle fidèle de myopathie centronucléaire lié à BIN1, et représente un modèle de choix pour tester des approches thérapeutiques.

**Mots-clefs :** myopathie, modèle canin, physiopathologie

## Modèles animaux, physiopathologie et aspects thérapeutiques

A149/#779

### Cardiovascular exploration integrated in International Mouse Phenotyping Consortium of new mutants for enhancer genes.

Julien Becker (1), Ghina Bouabou (2), Roy Combe (2), Lahcen Elfertak (2), Yann Herault (3), Laurent Monassier (4), Tania Sorg (2)

1. cardiovasculaire, institut clinique de la souris, strasbourg, France
2. cardiovasculaire, institut clinique de la souris, strasbourg, France
3. directeur, institut clinique de la souris, strasbourg, France
4. physiopathologie cardiovasculaire, faculté de médecine, strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Bouabou Ghina (bouabou@igbmc.fr)

L'institut clinique de la souris est impliqué dans un consortium international de phénotypage complet de tous les gènes de la souris. Jusqu'à présent l'institut a phénotypé 18 gènes, parmi ces gènes 2 présentent un phénotype intéressant dans la fonction cardiovasculaire (Nol8 et TIMM50)

**Mots-clés :** phénotypage cardiaque, international mouse phenotyping consortium, fonction cardiovasculaire

## Développement et foetopathologie

B001/#25

### Physiopathologie des aneuploïdies : conséquences du déséquilibre chromosomique sur l'organisation nucléaire et l'expression globale du génome

Bérénice HERVE (1), Aurélie COUSSEMENT (1), Pierre BOURDONCLE (2), Thomas GUILBERT (2), Franck LETOURNEUR (3), Sébastien JACQUES (3), Mathieu CHICARD (3), Florent DUMONT (3), Olivia ANSELLEM (4), Jean-Michel DUPONT (5)

1. Cytogénétique, Hôpital Cochin Port Royal, Paris, France
2. Plateforme d'Imagerie, Institut Cochin, Paris, France
3. Genom'ic, Institut Cochin, Paris, France
4. Maternité Port-Royal, Hôpital Cochin Port Royal, Paris, France
5. Cytogénétique, Cochin Port Royal, Paris, France

**Auteur correspondant :** HERVE Bérénice (herve.berenice@gmail.com)

Dans le noyau interphasique, la chromatine est organisée en territoires chromosomiques (TC) bien définis. Le lien entre cette organisation et la régulation de l'expression du génome reste un domaine méconnu.

Afin de préciser cette organisation, nous avons étudié un modèle de désorganisation : les aneuploïdies (trisomies 13, 18 et 21). Nous avons supposé que la présence d'un chromosome surnuméraire pouvait entraîner une perturbation de la distribution des TC dans le noyau, elle-même conduisant à une modification de l'activité transcriptionnelle.

Nous avons étudié la position des TC 18 et 21 par FISH 3D dans les noyaux interphasiques de fœtus porteurs d'une trisomie et de témoins. Nous avons également comparé les volumes des noyaux et des TC. Une analyse transcriptomique comparative de l'ensemble du génome des cellules porteuses d'une trisomie 13, 18 et 21 a été réalisée parallèlement afin de mettre en évidence des dérégulations d'expression.

Notre étude a montré que d'une part, en cas d'aneuploïdie, l'organisation des TC en trois copies dans le noyau semble globalement respectée. La tendance à une localisation plus périphérique des TC du chromosome 21 doit être confirmée par de nouvelles analyses. La question du positionnement des autres TC reste à préciser : si le chromosome surnuméraire est géré comme ses homologues en fonction de sa taille et de son contenu en gènes, quel est l'impact sur le positionnement des autres chromosomes ? La question de l'encombrement stérique nous a mené à l'étude des volumes nucléaires et des TC. Il semblerait exister une diminution du volume des TC en trois copies sans modification du volume des noyaux. L'utilisation d'outils microscopiques plus performants pourrait préciser cette éventuelle modification de volume. Si elle se confirme, se posera alors la question de savoir au détriment de quel compartiment, chromatinien ou interchromatinien, se fait cette compaction, et si elle concerne aussi les autres paires chromosomiques.

Enfin, nos résultats d'analyse des profils d'expression des échantillons porteurs de trisomie renforcent l'idée d'une combinaison d'un effet de dosage génique et d'une rupture de l'homéostasie à l'origine de la physiopathologie des aneuploïdies. Aux gènes dérégulés portés par les chromosomes en trois copies, s'ajoutent des modifications d'expression du reste du génome. Ces aneuploïdies nous sont apparues comme étant des pathologies touchant de multiples voies moléculaires impliquées dans le développement. Nous avons également mis en évidence des gènes avec un rôle potentiel dans l'apparition de certains traits phénotypiques.

Il semblerait exister un lien entre le déséquilibre génique des chromosomes aneuploïdes et les dérégulations de l'ensemble du génome.

**Mots-clés :** Territoires chromosomiques, Aneuploïdies, Transcriptome

## Développement et foetopathologie

B002/#56

### La lymphohistiocytose hémophagocytaire familiale de type 2 : une cause immunitaire rare d'anasarque fœtale. A propos d'une observation familiale.

Sophie Blesson (1), Jérôme Potin (2), Mélanie Jimenez-Pocquet (3), Christian Paillet (4), Geneviève De Saint Basile (5), Cécilia Rousselot-Denis (6), Franck Perrotin (4)

1. Génétique et Fœtopathologie, Hôpital Bretonneau, Tours, France
2. Unité de Médecine Fœtale, Hôpital Bretonneau, tours, France
3. Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
4. Unité de Médecine Fœtale, Hôpital Bretonneau, Tours, France
5. Centre des Déficits Immunitaires, Hôpital Necker, Paris, France
6. Anatomie et Cytologie Pathologique, Hôpital Bretonneau, Tours, France

**Auteur correspondant :** Blesson Sophie (blesson@med.univ-tours.fr)

Nous rapportons le cas d'un fœtus de sexe féminin, mort in utero à 38 SA ½, issu de la première conception d'un couple apparenté (coefficient 1/16). La grossesse a été marquée par l'apparition progressive d'un hydramnios franc, justifiant un amniodrainage à 38 SA, une ascite fœtale de moyenne abondance, une splénomégalie et une nette diminution des mouvements actifs fœtaux.

L'examen fœtopathologique macroscopique n'a pas été contributif chez ce fœtus macéré, non malformé, en dehors de la constatation d'une volumineuse ascite et d'un abondant épanchement pleural bilatéral citrin. L'examen histologique des viscères, effectué à deux reprises, n'a pas retrouvé de signes orientant vers une pathologie précise, notamment il n'a pas été noté de lésions au niveau des ganglions (foie et rate nécrosés). L'histologie placentaire mettait en évidence des lésions non spécifiques d'insuffisance circulatoire chronique.

L'ensemble des examens complémentaires étaient par ailleurs normaux : caryotype fœtal, HGPO, PCR virales, screening métabolique exhaustif, bilan hématologique et auto-immun maternel.

Secondairement, à l'occasion de la deuxième grossesse du couple, un conseil génétique restrictif a été formulé compte tenu du risque potentiel non chiffrable de récurrence d'une anasarque fœtale génétiquement déterminée de transmission autosomique récessive et une surveillance échographique de niveau 2 a été préconisée. Le deuxième enfant du couple, de sexe masculin, né au terme d'une grossesse normale, est décédé à 3 mois de vie dans un tableau de défaillance multi-viscérale en rapport avec un syndrome d'activation macrophagique. Le diagnostic de lymphohistiocytose hémophagocytaire familiale de type 2 a été évoqué et confirmé par la mise en évidence d'un statut homozygote pour une mutation faux sens du gène de la perforine. A posteriori, un statut moléculaire identique a été identifié chez le fœtus issu de la première grossesse.

Peu de cas de lymphohistiocytose hémophagocytaire familiale (LHF) à révélation anténatale ont été rapportés. En effet, le diagnostic est difficile car, dans les cas à révélation anténatale, l'examen histologique des différents organes ne révèle aucun signe d'hémophagocytose. C'est souvent l'histoire familiale et la naissance d'un autre enfant atteint qui permettent d'aboutir au diagnostic. Cependant, comme les auteurs l'ont suggéré, nous pensons que la LHF devrait être considérée comme un diagnostic plausible d'anasarque fœtale et que sa recherche devrait être entreprise quand le bilan étiologique habituel est négatif, au même titre que d'autres génopathies rares telles les maladies de surcharge lysosomale ou la stomatocytose héréditaire à cellules déshydratées, particulièrement dans les situations où il existe une consanguinité. En effet, cette maladie s'accompagne d'une morbidité postnatale très élevée et il est possible de recourir à un diagnostic prénatal dès lors que les mutations du gène en cause sont connues.

**Mots-clefs :** anasarque fœtale, lymphohistiocytose hémophagocytaire familiale, perforine

## Développement et foetopathologie

B003/#119

### Rasopathies à révélation anténatale : à partir de 3 observations fœtales.

Marie-Josée Perez (1), Nicole Bigi (1), Lucile Pinson (2), Marie-Hélène Zeraffa (2), Hélène Cavé (3), Jean Chiesa (4), Sophie Blesson (5)

1. Génétique et Fœtopathologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Génétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Génétique moléculaire, Hôpital Robert-Debré, Paris, France
4. Fœtopathologie-Génétique, CHU Caremeau, Nîmes, France
5. Génétique et Fœtopathologie, Hôpital Bretonneau, Tours, France

**Auteur correspondant :** Blesson Sophie (blesson@med.univ-tours.fr)

Les rasopathies constituent, en post-natal, un groupe hétérogène d'entités cliniques de mieux en mieux définies sur le plan phénotypique, pour lesquelles les corrélations phénotype génotype restent difficiles à définir du fait de nouveaux gènes impliqués dans la voie de signalisation RAS-MAKP.

En post natal, la présence d'éléments morphologiques caractéristiques oriente vers l'identification d'une mutation dans l'un de ces gènes, permettant de confirmer le diagnostic dans la majorité des cas.

Le spectre phénotypique et les modes de révélation des rasopathies chez le fœtus sont mal connus. Après enquête menée auprès des fœtopathologistes membres de la SOFFOET, peu de cas ont été clairement évoqués durant la vie fœtale ou au décours de l'examen fœtopathologique, exceptés ceux survenant dans un contexte de récurrence familiale.

Nous présentons 3 observations fœtales de rasopathies pour lesquelles le diagnostic a été établi en post-mortem, sur l'analyse morphologique, au décours de l'examen fœtopathologique macroscopique, par le médecin fœtopathologiste et/ou le généticien clinicien.

Outre les médecins fœtopathologistes, nous souhaitons ainsi sensibiliser les acteurs impliqués dans les centres de diagnostic prénatal afin d'élargir la cohorte fœtale et d'établir secondairement un profil phénotypique plus précis des rasopathies à révélation anténatale. En effet, le diagnostic des rasopathies à révélation anténatale, confirmé sur le plan moléculaire, doit permettre un conseil génétique précis, le plus souvent rassurant lorsqu'il s'agit de mutations de novo.

**Mots-clefs :** rasopathie, anténatale, fœtus



**Développement et foetopathologie****B004/#177****Malformations congénitales noncardiaques associées aux cardiopathies congénitales  
Associated noncardiac anomalies among infants with congenital heart disease**

Claude Stoll (1)

1. Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Stoll Claude (cstoll@unistra.fr)

**INTRODUCTION:** Bien que la majorité des cardiopathies congénitales (CG) soient isolées, un nombre significatif d'entre elles surviennent avec des malformations congénitales associées, non cardiaques. Le but de ce travail a été d'étudier la prévalence et le type de malformations associées aux CG dans une population bien définie. **METHODES :** Les malformations associées ont été collectées chez tous les nés vivants, les mort-nés et les interruptions de grossesse pendant 26 ans dans 346.831 naissances consécutives dont l'issue est connue dans la région couverte par notre registre de malformations congénitales de population. **RESULTATS :** 1006 (25,1 %) des 4005 enfants nés avec une CG (prévalence à la naissance de 116 pour 10.000) ont des malformations associées. On a 401 (10 %) patients avec des aberrations chromosomiques dont 253 (63 %) trisomies 21, et 186 (4,6 %) syndromes dysmorphiques connus. Il n'y a pas de syndromes dysmorphiques prédominant à part l'association VA(C)TER(L). Cependant, d'autres syndromes dysmorphiques ont été reconnus comme le syndrome de Noonan et le syndrome d'alcoolisme fœtal. 490 (10,5 %) des patients ont des malformations congénitales multiples, non syndromiques, non chromosomiques. Les plus fréquentes de ces malformations intéressent les systèmes musculosquelettique, urinaire, digestif et le système nerveux central. **CONCLUSIONS :** La prévalence totale des malformations associées qui est de une sur sept enfants, indique qu'il est nécessaire de faire un bilan complet chez les enfants qui ont une CG. Les malformations majeures non cardiaques touchent les systèmes musculosquelettique, urinaire, digestif et le système nerveux central. Un dépistage de routine à la recherche d'autres malformations congénitales est indiqué chez les enfants et les fœtus qui ont une CG. Des malformations non cardiaques qu'on peut classer en syndrome malformatif reconnu sont associées chez un enfant sur sept ayant une CG.

**Mots-clefs :** cardiopathies congénitales, malformations congénitales, syndromes**Développement et foetopathologie****B005/#184****Des mutations dans le gène WDR34, qui code pour un régulateur de la voie d'activation NF-kappaB, sont responsables du syndrome de Verma-Naumoff (Côtes Courtes Polydactylie de type III).**

Céline Huber (1), Sulin Wu (2), Ashley S. Kim (2), Sabine Sigaudy (3), Anna Sarukhanov (2), Valérie Serre (1), Geneviève Baujat (1), Kim-Hanh Le Quan Sang (1), David L. Rimoin (4), Daniel H. Cohn (5), Arnold Munnich (1), Deborah Krakow (6), Valérie Cormier-Daire (1)

- Département de Génétique, INSERM U781, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
- Departments of Orthopaedic Surgery, David Geffen School of Medicine at UCLA, University of California at Los Angeles, Los Angeles, USA
- Département de Génétique Médical, CHU de Marseille, Hôpital de la Timone (AP-HM), Marseille, France
- International Skeletal Dysplasia Registry, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, USA
- Departments of Orthopaedic Surgery, Department of Molecular Cell and Developmental Biology, David Geffen School of Medicine at UCLA, University of California at Los Angeles, Los Angeles, USA
- Departments of Orthopaedic Surgery, Human Genetics, International Skeletal Dysplasia Registry, David Geffen School of Medicine at UCLA, University of California at Los Angeles, Los Angeles, USA

**Auteur correspondant :** Cormier-Daire Valérie (valerie.cormier-[daire@inserm.fr](mailto:daire@inserm.fr))

Le groupe des Côtes Courtes Polydactylie (ou CCP), qui fait partie des ciliopathies, comporte six entités distinctes toutes transmises selon un mode autosomique récessif, et caractérisé par un thorax étroit, des côtes courtes, des os longs courts un aspect en trident du bassin et une polydactylie inconstante. Parmi ces six entités, le syndrome de Verma-Naumoff ou CCP de type III se distingue par des anomalies métaphysaires marquées avec spicules spicules métaphysaires. Des mutations dans IFT80 ou DYNC2H1, codant pour des protéines participant au transport intraflagellaire des cils, ont été identifiées à ce jour à son origine. Après avoir exclu ces deux gènes dans une famille consanguine algérienne comprenant 3 foetus porteurs de CCP de type III, nous avons utilisé une stratégie de cartographie par homozygotie, nous permettant ainsi de mettre en évidence une région commune d'homozygotie de 3.6 Mb en 9q34.11. Cette région de 94 gènes comprend 33 gènes candidats référencés dans la base de données cils (cildbV2). Après exclusion par séquençage direct du gène ODF2 (outer dense fiber protein 2), nous avons considéré et identifié une mutation faux sens homozygote chez les trois foetus atteints dans le gène WDR34 (WD repeat-containing protein 34) (ex7, c.1022C>T, [p.Ala341Val]). Cette mutation n'a pas été retrouvée parmi 242 chromosomes contrôles, et bien quelle soit considérée par le programme de prédiction PolyPhen comme étant bénigne, le programme SIFT (Sorting Intolerant from Tolerant) la considère comme pouvant affecter la fonction de la protéine WDR34. Afin de confirmer ou infirmer la responsabilité de cette mutation, nous avons réalisé un "whole-exome" chez un des trois foetus et avons retrouvé un seul variant homozygote au sein de notre région en 9q34.11, correspondant à notre mutation. L'étude d'une cohorte de 30 cas de CCP de type III, a ensuite permis d'identifier, à l'état homozygote ou hétérozygote composite, trois nouvelles mutations faux sens distinctes dans WDR34 au sein de 3 familles non apparentées. WDR34 code pour une protéine de la famille des WD repeat comportant 5 domaines WD40, précédemment identifiée dans le groupe des ciliopathies avec anomalies squelettiques. WDR34 aurait un rôle de suppresseur associé à TAK1, au sein de la voie de signalisation NF-kappaB induite par IL-1R/TLR3/TLR4. Une modélisation tridimensionnelle nous a permis de montrer que deux des trois mutations testées altèrent les domaines structuraux de WDR34. L'étude des fibroblastes de deux patients a permis de mettre en évidence une anomalie de taille et de forme du cil. Au final, cette étude étend les bases moléculaires des CCP de type III et démontre qu'un régulateur de la voie d'activation

NF-kappaB intervient dans la pathogénie d'une ciliopathie squelettique.

**Mots-clefs** : Côtes Courtes Polydactylie (CCPIII), ciliopathie, WDR34

## Développement et foetopathologie

**B006/#193**

### Evaluation de la prise en charge rééducative, sociale et médicale chez une cohorte de 19 enfants atteints d'un syndrome de Prader Willi.

Christine Binquet (1), Mathieu Bordes (2), Sophie Chancenotte (2), Frédérique Debomy (2), Patrick Edery (3), Laurence Favre (2), Jennifer Gallard (4), David Genevieve (5), Didier Lacombe (6), Sylvie Manouvrier (7), Alice Masurel-Paulet (2), Delphine Minot (2), Sylvie Odent (8), Nicole Philip (9), Pierre Sarda (5), Emilie Schmitt (2), Maité Tauber (10), Christel Thauvin- Robinet (2), Alain Verloes (4), Sandrine Vinault (1)

1. Centre d'Investigation Clinique – Epidémiologie Clinique, Faculté de Médecine, CHU Dijon, Dijon, France
2. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Est, CHU Dijon et Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Centre Est, HFME, HCL, Lyon, France
4. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Nord Est, CHU Lille, Lille, France
5. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Midi Pyrénées, CHU Montpellier, Montpellier, France
6. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Sud-Ouest, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
7. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Nord Est, CHU Lille, Lille, France
8. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
9. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Sud-Est, APHM, Marseille, France
10. Centre de Référence Syndrome de Willi-Prader, CHU Toulouse, Toulouse, France

**Auteur correspondant** : Masurel-Paulet Alice (alice.masurel@chu-dijon.fr)

Le syndrome de Prader-Willi (PWS) est un syndrome rare associant une pathologie neuro-développemental, des troubles endocriniens et un risque d'obésité, nécessitant donc un suivi multidisciplinaire. A partir d'une étude nationale visant à décrire, chez 700 enfants d'âge scolaire (4 à 20 ans) porteurs d'anomalies chromosomiques, la prise en charge médicale, rééducative, sociale et scolaire en corrélation à leur profil neuropsychologique, une cohorte de 19 patients atteints de syndrome de Prader-Willi, a été étudiée. La moyenne d'âge de la cohorte est de 9.2 ans, le QI total moyen est estimé à 58, avec une fréquente dissociation entre le QI verbal et performance, mais sans profil neuropsychologique particulier. L'échelle de Vineland révèle un niveau d'autonomie égal à 5.3 ans et niveau de communication égal à 5.9 ans), et des troubles du comportement sont retrouvés à la CBLC. Le suivi médical multidisciplinaire, bien que satisfaisant sur le plan endocrinologique, n'est pas toujours optimal avec en particulier un manque de suivi pédopsychiatrique. La majorité des patients ont une rééducation multidisciplinaire en structure médicosociale ou en libéral, mais une prise en charge psychologique, ergothérapeutique et diététique insuffisante qui peut être expliquée par plusieurs raisons (absence de proposition par les médecins référents, difficulté d'accès, liste d'attente, ou par choix des parents). Il n'a pas été retrouvé de différence en fonction du lieu de vie en zone rurale ou urbaine, tant pour le type de prise en charge que pour l'accès au soin ou au temps de déplacement. La plupart des patients de moins de 7 ans sont en maternelle avec une assistante de vie scolaire, un relai par la CLIS est noté puis une intégration dans un institut médico-social. Ce parcours est plus en lien avec l'âge de l'enfant que son niveau de déficience. Tous les patients ont une reconnaissance de handicap sauf un. Les niveaux de prestations sociales ne sont pas toujours corrélés au

niveau de handicap, ou au temps de travail parental. Les parents signalent être satisfaits ou très satisfaits de la prise en charge médicale, scolaire ou sociale dans 70% des cas. Des progrès restent à faire pour adapter la prise en charge multidisciplinaire et sociale aux besoins des patients et de leurs familles, ce qui pourrait être une mission de coordination des centres de références maladies rares.

**Mots-clefs** : Syndrome de Prader Willi, Prise en charge paramédicale, Prise en charge médicale

## Développement et foetopathologie

**B007/#195**

### Apport du séquençage haut-débit en foetopathologie : caractérisation des points de cassure d'une translocation t(8;17) chez un fœtus porteur d'une malformation cérébrale isolée

Caroline Schluth-Bolard (1), Eudeline Alix (2), Tania Attié-Bitach (3), Audrey Labalme (2), Jessica Michel (2), Valérie Malan (3), Nicole Morichon-Delvallez (3), Serge Romana (3), Féréchté Encha-Razavi (3), Damien Sanlaville (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Equipe TIGER, Lyon, France
2. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Service d'Histo-embryologie et Cytogénétique, Hôpital Necker, APHP, Paris, France

**Auteur correspondant** : Schluth-Bolard Caroline (caroline.schluth@yahoo.fr)

Le séquençage haut-débit (NGS Next Generation Sequencing) a récemment montré son intérêt pour le clonage rapide et précis des points de cassure des remaniements chromosomiques équilibrés. Il a été utilisé principalement dans un contexte post-natal. Nous rapportons dans ce travail son application dans le cadre de la foetopathologie, concernant un fœtus interrompu à 25 semaines d'aménorrhée suite à la découverte échographique d'une holoprosencéphalie semi-lobaire.

L'examen foetopathologique a montré un fœtus eutrophe de sexe masculin, ne présentant pas de dysmorphie cranio-faciale, de malformation viscérale ou d'anomalie osseuse. L'examen neuropathologique a révélé la présence d'une hydrocéphalie triventriculaire en rapport avec un rhombencéphalosynapsis incomplet et une sténose de l'aqueduc de Sylvius.

Le caryotype réalisé sur liquide amniotique a identifié une translocation réciproque apparemment équilibrée de novo entre les chromosomes 8 et 17 : 46, XY,t(8q;17q). Une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (Agilent, puce oligonucléotides 400K) a été réalisée à partir d'ADN extrait de thymus congelé. Elle a mis en évidence une duplication de 817 kb sur le chromosome 5 en 5q14.1 considérée comme probablement bénigne, mais aucun déséquilibre au niveau des points de cassure n'a été identifié.

La caractérisation des points de cassure a été réalisée grâce au séquençage haut débit génome entier à partir d'ADN extrait du thymus fœtal congelé (Integrage). Les points de cassure ont été localisés en 8q24.3 et en 17q11.2. Aucun gène n'a été interrompu par le remaniement. Sur le chromosome 8, le point de cassure est localisé au niveau d'une séquence régulatrice potentielle et sur le chromosome 17, il est situé au niveau d'un duplicon entre les gènes RNF135 et NF1. Des études fonctionnelles seront nécessaires pour rechercher un effet de position sur les gènes adjacents au point de cassure.

En conclusion, cette étude montre la faisabilité du NGS pour cloner les points de cassure de remaniement chromosomique à partir d'ADN fœtal extrait de tissu congelé.

**Mots-clefs** : Holoprosencéphalie, NGS, Translocation

## Développement et foetopathologie

B008/#211

### Ostéopathie striée avec sclérose de la base du crâne : quand un syndrome malformatif fœtal révèle la pathologie maternelle.

Chloé Quélin (1), Philippe Loget (2), Dominique D'Hervé (3), Joëlle Milon (4), Mathilde Ferry (5), Delphine Body-Béchou (6), Mélanie Fradin (1), Laurent Pasquier (1), Florence Demurger (1), Catherine Tréguier (7), Maria Garcia Hoyos (8), Sylvie Odent (1)

1. Service de Génétique Clinique, Centre de Référence Maladies Rares CLAD-Ouest, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
2. Service d'Anatomopathologie, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Clinique La Sagesse, Rennes, France
4. Pôle d'Imagerie Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
5. Imagerie Médicale, Rive Gauche, Rennes, France
6. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
7. Département de Radiologie et d'Imagerie Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
8. IMEGEN, Instituto de Medicina Genómica, Paterna, Espagne

**Auteur correspondant :** Quélin Chloé (chloe1512@yahoo.fr)

L'ostéopathie striée avec sclérose de la base du crâne (OSCS) est une dysplasie squelettique rare, de transmission dominante liée à l'X, dont l'expressivité est très variable. Chez les femmes, cette pathologie est généralement bénigne et se caractérise par une macrocéphalie, une dysmorphie faciale (front large avec bosses frontales marquées, hypertélorisme, oreilles basses), un palais creux voire une fente palatine, des malpositions dentaires et des anomalies radiologiques spécifiques associant striations métaphysaires et sclérose de la base du crâne. A l'inverse, le phénotype des garçons hémizygotés a été rarement décrit et se caractérise par un syndrome malformatif avec risque de mort in utero ou de décès dans l'enfance. Les principaux signes cliniques sont une macrocéphalie, une dysmorphie faciale, une fente palatine voire une séquence de Pierre-Robin, une hypotonie, un retard mental, une épilepsie, des anomalies des extrémités (pieds bots...), des anomalies gastro-intestinales (omphalocèle, atrésie anale...), des cardiopathies, des malformations cérébrales (hypoplasie du corps calleux...) et des anomalies radiologiques telles que la sclérose de la base du crâne, l'hypoplasie fibulaire ou les phalanges dupliquées mais sans striations métaphysaires. Sur le plan moléculaire, l'OSCS est liée à des mutations du gène *WTX/FAM123B* en Xq11.1, un important répresseur de la cascade de signalisation WNT. En prénatal, les diagnostics d'OSCS sont rares et souvent portés en cas d'histoire familiale avec notamment une mère atteinte.

Nous rapportons le cas d'un fœtus de sexe masculin pour lequel l'OSCS a été évoqué lors de l'examen foetopathologique. La grossesse avait été marquée par la mise en évidence échographique d'un rétrognatisme, d'une omphalocèle, de pouces en hyperextension, d'un fémur court et d'une macrocéphalie avec ventricules larges. Le couple souhaitait poursuivre la grossesse mais une mort in utero a été constatée à 34 SA et 6 jours. A l'autopsie, le fœtus présentait une macrocéphalie, une dysmorphie faciale avec notamment séquence de Pierre-Robin, des pieds bots, des pouces larges, une omphalocèle avec méésentère commun et un pénis court. Les radiographies montraient essentiellement une duplication bilatérale des phalanges distales des pouces, une hypoplasie fibulaire bilatérale et une nette densification des os longs, signe rarement rapporté dans la littérature. Le caryotype fœtal était normal, ainsi que la CGH-array. Lors de la grossesse, le généticien avait noté que la patiente était dysmorphique avec en particulier un PC à 64 cm (+5DS). L'hypothèse d'OSCS émise devant cette histoire familiale a pu être confirmée par la mise en évidence de lésions osseuses caractéristiques chez la maman et d'une mutation dans le gène *WTX/FAM123B*.

Conclusion : l'association d'une macrocéphalie maternelle et d'un syndrome malformatif fœtal doit faire évoquer le diagnostic d'OSCS.

**Mots-clés :** Macrocéphalie, Ostéopathie striée, Prénatal

## Développement et foetopathologie

B009/#254

### Identification d'une mutation sur le gène *RIPK4* chez un fœtus atteint du syndrome de Bartsocas-Papas

leila Boukhalfa Medjenah (1), Adina carmen Petcu (2), alix Clemenson (2), marie noëlle varlet (3), fabienne Prieur (1), Renaud Touraine (1)

1. Service de génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
2. service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
3. Service d'Échographie Obstétricale, Clinique Mutualiste, Saint-Etienne, France

**Auteur correspondant :** Boukhalfa Medjenah leila (leilaboukhalfa@gmail.com)

Le syndrome de Bartsocas-Papas est une forme autosomique récessive létale du syndrome des pterygium poplités, caractérisé essentiellement par une dysmorphie faciale particulière et des malformations congénitales multiples. Récemment des mutations homozygotes sur *RIPK4* le gène qui code pour la Protéine Receptor-Interacting serine/thréonine Kinase 4 ont été identifiés comme responsable de ce syndrome.

Nous rapportons l'observation d'un couple apparenté d'origine turque, G2P2, sans antécédent médical familial ou personnel. Pour cette deuxième grossesse une interruption médicale de grossesse a eu lieu à 17 SA suite à la découverte à l'échographie du premier trimestre d'un syndrome polymalformatif sévère avec immobilité fœtale compatible avec une arthrogrypose. Le caryotype réalisé sur de villosité chorionale était normal ainsi que le résultat de la recherche des microdeletions et microduplications les plus courantes par MLPA.

L'examen du fœtus met en évidence une dysmorphie faciale associant une absence de paupières, une fente labio-palatine bilatérale d'aspect inhabituelle avec une hypoplasie nasale et des oreilles petites accolées au scalp. Il existait en outre, une petite omphalocèle, des pterygiums multiples des membres supérieurs et inférieurs, des syndactylies des mains et des pieds, une imperforation anale et une absence d'organes génitaux externes chez ce fœtus masculin.

L'étude moléculaire du gène *RIPK4* a permis d'identifier la présence de la mutation c.1074dupT à l'état homozygote, cette duplication est responsable de la création d'un codon stop prématuré (p.E359X). Mutation héritée des deux parents hétérozygotes.

Le tableau clinique de cette forme de pterygiums multiples est particulier et très évocateur. Toutefois, il existe des formes atténuées compatibles avec la vie qui sont des diagnostics différentiels du syndrome de Hay-Wells. Les quelques cas qui ont survécu à la période néonatale ne semblent pas présenter de déficience intellectuelle, ce qui paraît corrélé au rôle de ce gène dans le développement des keratinocytes et de l'épiderme de façon plus générale.

**Mots-clés :** Syndrome de Bartsocas-Papas, gène *RIPK4*, Pterygiums multiples, Syndrome polymalformatif



**Développement et foetopathologie****B010/#276****Holoprosencéphalie : Recherche de nouveaux gènes candidats par séquençage exomique de régions homozygotes dans des familles consanguines**

Charlotte Mouden (1), Marie De Tayrac (2), Christèle Dubourg (2), Wilfrid Carré (3), Marie-Claude Babron (4), Bénédicte Héron (5), Lucile Pinson (6), Sandrine Marlin (7), Nicolas Chassaing (8), Leslie Ratié (1), Valérie Dupé (1), Sylvie Odent (9), Véronique David (2)

1. UMR 6290 CNRS IGDR, Université de Rennes 1, Rennes, France
2. UMR 6290 CNRS IGDR, Université de Rennes 1 - Service de génétique moléculaire et génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. Service de génétique moléculaire et génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
4. INSERM U946, Fondation Jean Dausset, CEPH, Paris, France
5. Service de neuropédiatrie, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
6. Service de génétique médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
7. Service de génétique médicale, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
8. Service de génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
9. UMR 6290 CNRS IGDR, Université de Rennes 1 - Service de génétique clinique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France

**Auteur correspondant :** David Véronique (veronique.david@univ-rennes1.fr)

L'holoprosencéphalie (HPE) est une anomalie du développement précoce qui résulte d'un défaut de clivage du prosencéphale; elle représente la plus fréquente des anomalies du développement du cerveau (1/10000 naissances, 1/250 conceptions). L'HPE est caractérisée par une expressivité phénotypique variable au niveau de la face et du cerveau et son étiologie est à la fois environnementale et génétique. Son mode de transmission d'abord considéré comme dominant est maintenant établi comme multigénique, résultant d'anomalies génétiques impliquant au moins deux des quatre gènes majeurs (SHH, ZIC2, SIX3 and TGIF) et/ou des 10 gènes mineurs appartenant à plusieurs voies de signalisation. Cependant, des mutations ou délétions de ces différents gènes ne sont retrouvés que dans 30% des cas d'HPE. Une transmission récessive de l'HPE peut aussi être suspectée dans les familles consanguines présentant une récurrence intrafamiliale. La stratégie de cartographie par homozygotie a été initiée dans 6 familles consanguines pour rechercher des régions identiques par descendance susceptibles de contenir des mutations homozygotes. Deux enfants HPE de chaque famille ainsi que leurs parents, ont été génotypés à l'aide de puces HumanCytoSNP-12 arrays (Illumina). Nous avons d'abord déterminé l'origine de la population à laquelle appartenait chacune de ces familles avec OriginMineR [de Tayrac, ASHG 2012] pour estimer la fréquence spécifique de ces SNPs. Le taux de consanguinité des enfants atteints a été établi à partir des données génomiques par la méthode FEstim. Trois régions d'intérêt principales ont été repérées sur les chromosomes 1, 6 et 10. Nous avons ensuite complété cette approche par du séquençage haut-débit portant sur l'exome de quatre de ces familles en focalisant l'analyse sur les régions homozygotes partagées par deux enfants HPE de chaque famille. Plusieurs gènes candidats ont ainsi été mis en évidence.

**Mots-clefs :** Holoprosencéphalie, Cartographie par homozygotie, Exome

**Développement et foetopathologie****B011/#371****Des mutations hypomorphes du gène PTCH1 expliquent des anomalies variées du développement embryonnaire oculaire**

Nicolas Chassaing (1,2), Erica E. Davis (3,4), Alexandre Causse (2,5), Véronique David (6,7), Annaïck Desmaison (2), Adrienne R. Niederriter (3,4), Sophie Lamarre (8,9), Catherine Vincent-Delorme (10), Laurent Pasquier (11), Christine Coubes (12), Didier Lacombe (13,14), Massimiliano Rossi (15), Jean-Louis Duffier (16), Helene Dollfus (17), Josseline Kaplan (18), Nicholas Katsanis (3,4), Heather C. Etchevers (2,19), Stanislas Faguer (20,21), Patrick Calvas (1,2).

1. CHU Toulouse, Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. Université Paul-Sabatier Toulouse III, CPTP, EA-4555, Toulouse, France
3. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA
4. Department of Pediatrics and Department of Cell Biology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA
5. CHU Toulouse, Service d'Ophtalmologie, Hôpital Purpan, Toulouse, France
6. Institut de Génétique et Développement, CNRS UMR6290, Université de Rennes 1, IFR140 GFAS, Faculté de Médecine, Rennes, France
7. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes Cedex, France
8. INRA, UMR792, Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, Toulouse, France
9. Plateforme Biopuces de la Gépole de Toulouse Midi Pyrénées, INSA/DGBA 135, Toulouse, France
10. Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
11. Service de Génétique clinique, Hôpital Sud, 35200 Rennes, France
12. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
13. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
14. Université Bordeaux Segalen, Laboratoire MRGM, Bordeaux, France
15. Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, Bron, France
16. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Necker enfants Malades, Paris, France
17. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 67091 Strasbourg, France
18. INSERM U781 & Department of Genetics, Paris Descartes University, 75015 Paris, France
19. INSERM, U910, Université de la Méditerranée Faculté de Médecine, 13385, Marseille, France
20. INSERM Unit 1048, I2MC, Team 12, Toulouse, France
21. Service de Néphrologie et Immunologie Clinique, Hôpital Rangueil, CHU de Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Chassaing Nicolas (chassaing.n@chu-toulouse.fr)

Les micro/anophtalmies (M/A) sont les plus sévères des malformations de l'œil. Leur incidence est estimée à 1 sur 10000 naissances. La microphthalmie est définie par une diminution de la longueur axiale de l'œil, l'anophtalmie par une absence de structure oculaire. Les causes d'origine génétique sont prépondérantes, et le risque de récurrence de M/A dans la fratrie d'un cas index est estimé entre 10 % et 15 %. Une importante hétérogénéité génétique a été démontrée, et de nombreux gènes ont été impliqués dans les M/A.

Malgré l'analyse moléculaire poussée des principaux gènes de M/A, les mutations causales ne sont identifiées que chez ¼ des patients. L'explication à cela est que probablement seule une petite partie des gènes impliquée dans ces défauts du développement sévères de l'œil a été identifiée. Notre hypothèse est qu'il pourrait s'agir de gènes exprimés précocement dans le développement oculaire et régulés par les facteurs de transcription déjà impliqués dans les M/A.

Nous avons mené en parallèle une approche d'analyse transcriptomique et une approche par immunoprécipitation de chromatine pour identifier les gènes cibles des facteurs de transcription SOX2, PAX6, OTX2 et RAX dans des cellules souches embryonnaires génétiquement modifiées. Ces analyses nous ont permis d'identifier 152 gènes, candidats pour être impliqués dans les M/A. Les gènes ont été sélectionnés car, en plus d'être régulés par au moins un des facteurs de transcription étudiés, ils avaient une expression connue au cours du développement oculaire et/ou cérébral, ou appartenaient à une famille de gènes elle-même



impliquée dans le développement oculaire. Ces gènes et leurs séquences régulatrices ont été étudiés par séquençage haut débit chez 22 patients présentant des défauts du développement de l'œil.

Le résultat principal de cette étude concerne le gène PTCH1, qui code pour un récepteur membranaire de SHH, déjà impliqué dans le syndrome de Gorlin et l'holoprosencéphalie. Des variations hétérozygotes de PTCH1 ont été identifiées chez 5 patients (un frameshift et quatre faux sens). Les analyses transcriptomiques et l'immunoprécipitation de chromatine montrent que l'expression PTCH1 est directement régulée par le facteur de transcription SOX2. Nous avons identifié deux variants supplémentaires parmi une cohorte de 48 patients avec malformations oculaires. Les analyses de ségrégation familiale montraient que ces variants étaient hérités de parents souvent asymptomatiques, confirmant la pénétrance incomplète observée dans l'holoprosencéphalie pour les mutations de la voie SHH. Par des expériences menées sur le poisson zèbre, nous avons pu démontrer l'effet hypomorphe des mutations de PTCH1 identifiées chez nos patients.

Cette étude identifie PTCH1 comme un gène important (impliqué chez 10 % des patients) de malformations oculaires de sévérité variable et souligne l'importance de la voie SHH au cours du développement oculaire.

**Mots-clefs** : microphthalmie, dysgénésie du segment antérieur, PTCH1

## Développement et foetopathologie

B012/#434

### Tex19 paralogs: new members of the piRNA pathway

Yara Tarabay (1), Mayada Achour-Jreda (1), Marius Teletin (1), Tao Ye (1), Manuel Mark (1), Deborah Bourc'his (2), Stéphane Viville (1)  
1. IGBMC, IGBMC, Illkirch, France  
2. UMR 3215-Inserm U934, Institut Curie, Paris, France

**Auteur correspondant** : Viville Stéphane (viville@igbmc.fr)

We recently characterized two new mammalian specific genes, Tex19.1 and its paralog Tex19.2. Both genes are expressed in pachytene spermatocytes in adult testes. In addition, Tex19.1 is expressed in pluripotent cells (ES, EG, iPS and PGC cells), the inner cell mass of the blastocysts and the placenta.

In order to decipher Tex19 functions, we generate three types of knockout (KO): i) KO of Tex19.1 ii) KO of Tex19.2 iii) double KO (DKO) of both genes. All Tex19.1-/- KO animals are growth-retarded and half of them die just after birth. This phenotype is probably linked to placenta defects. Surviving adults Tex19.1-/- KO males display a variable spermatogenesis phenotype, associated with an up-regulation of one endogenous retrovirus, MMERVK10C. Tex19.2 KO mice exhibit a subtle phenotype. Few seminiferous epitheliums are degenerated while the rest appear normal. DKO show a fully penetrant phenotype similar to the most severe Tex19.1-/- phenotype. DKO males exhibit small testes. Despite the presence of spermatogonia and spermatocytes, spermatogenesis is blocked at the pachytene stage. By RNA deep-sequencing on 10 days old DKO and WT testes, prior to histological phenotype, 114 genes are significantly up-regulated and 320 genes significantly down-regulated in the DKO compared to the WT. Gene ontology analyses show that among of these genes, two essential pathways are altered: meiosis and the piRNA pathway. Consistent with that, GST-pulldown and immunoprecipitation experiments demonstrate that MIWI, MILI, MAEL and MVH are partners of TEX19. Considering PIWI proteins function in the silencing of transposable elements through the piRNA pathway, we checked if TEX19 paralogs bind piRNA. By immunoprecipitation using WT and KO testes, we show that both TEX19.1 and TEX19.2 bind small RNA of 30 nucleotides through their VPTEL domain.

This study highlights the pivot role of Tex19 paralogs in three essential functions of mammalian life cycle, i.e. pluripotency, placenta-supported in utero growth and fertility. The functional similarities of both paralogs, through the expression control of one endogenous retrovirus and the binding of piRNAs, lead us to propose that Tex19 paralogs are new members of the piRNA pathway and therefore one of the factor responsible of the genomic stability.

**Mots-clefs** : Genome stability, piRNA pathway, Retrotransposon

## Développement et foetopathologie

B013/#452

### Les Tubulinopathies: phenotypes distinctifs et communs: quels sont les éléments clé du diagnostic

Karine Poirier (1), Franck Fourniol (2), Catherine Fallet-Bianco (3), Yoann Saillour (1), Nathalie Boddaert (4), Nicolas Lebrun (1), Stephanie Valence (5), Caroline Elie (6), Marie Hully (7), Karine Lascelles (8), Karine Lascelles (8), Consortium LIS-Tubulin Consortium (9), Isabelle Souville (10), Cherif Beldjord (10), Jamel Chelly (1), Nadia BAHI-BUISSON (11)

1. INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France
2. CRUK, London Research Institute., Londres, Royaume-Uni
3. Foetopathologie, Université de Montreal –CHU Sainte Justine., Montreal, Canada
4. RAdiologie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Neurologie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades-, Paris, France
6. Biostatistiques, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France
7. Neurologie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France
8. Pediatric Neurology, Evelina Children's Hospital, St Thomas Hospital., London, Royaume-Uni
9. Neurologie Pédiatrique - INSERM U781 -, Hopital Necker Enfants Malades-Institut Imagine, PARIS, France
10. Biologie moléculaire, Hopital Cochin, Paris, France
11. Neurologie Pédiatrique - INSERM U781 -, Hopital Necker Enfants Malades-Institut Imagine, Paris, France

**Auteur correspondant :** Bahi-Buisson Nadia (nadia.bahi-buisson@inserm.fr)

Les malformations corticales liées à des mutations dans les gènes codant pour des tubulines TUBA1A, TUBB2B, TUBB3 et TUBB5, communément appelées "Tubulinopathies" sont des malformations hétérogènes à l'origine d'un large spectre de tableaux cliniques et radiologiques. Parmi les 106 patients présentant une malformation cérébrale complexe adressés au laboratoire, 45 (42.5%) avaient une mutation dans TUBA1A, 18 (16.9%) dans TUBB2B, 11 (10.4%) dans TUBB3, 3 (2.8%) dans TUBB5 et 3 (2.8%) dans TUBG1.

Dans ce travail, nous présentons l'association des mutations dans les gènes « tubulines » avec 5 groupes de malformations corticales : (i) microlissencéphalie (12) (ii) lissencéphalie (19), (iii) pachygyrie and polymicrogyrie-like cortical dysplasia ou polymicrogyrie atypique de topographie centrale (24), (iv) polymicrogyrie atypique diffuse (6), et (v) une gyration simplifiée avec des zones de polymicrogyrie focale (19).

La dysmorphie des ganglions de la base constitue le signe caractéristique majeur (75% des cas), qui est retrouvé dans 100% des cas de pachygyrie and polymicrogyria like cortical dysplasia central et de gyration simplifiée. Les tubulinopathies sont également caractérisées par une prévalence élevée d'agénésie du corps calleux (32/80; 40%) et de dysplasie / hypoplasie cérébelleuse (63/80; 78.7%). Les cas foetaux ont également des signes spécifiques parmi lesquels une hypertrophie des zones germinatives.

La complexité des tubulinopathies reflète la pléiotropie des effets des tubulines et de leur expression spatio-temporelle. Chacun de leurs différents rôles peut être variablement affecté par une mutation et donc être responsable de la variabilité phénotypique observée. Toutefois, les prédictions des données structurales ne nous permettent pas d'établir des corrélations phénotype-génotype.

Bien qu'il existe un overlapping entre les différents phénotypes, les malformations les plus fréquemment observées dans les tubulinopathies TUBA1A et TUBG1 sont des lissencéphalies et des microlissencéphalies, alors que les tubulinopathies TUBB2B sont principalement des polymicrogyries atypiques centrales. Par contraste, les mutations TUBB3 et TUBB5 sont responsables de malformations moins sévères à type de polymicrogyries atypiques focales avec une simplification gyrale.

**Mots-clefs :** Malformations corticales, Lissencéphalie, Polymicrogyrie

## Développement et foetopathologie

B014/#453

### Spectre clinique et radiologique des Polymicrogyries : approches pour une orientation diagnostique

Stephanie Valence (1), Yoann Saillour (2), Karine Poirier (2), Nicolas Lebrun (2), Nathalie Boddaert (3), Consortium LIS-Tubulin Consortium (4), Cherif Beldjord (5), Jamel Chelly (2), Nadia BAHI-BUISSON (6)

1. Neurologie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades-, Paris, France
2. INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France
3. RAdiologie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Neurologie Pédiatrique - INSERM U781 -, Hopital Necker Enfants Malades-Institut Imagine, PARIS, France
5. Biologie moléculaire, Hopital Cochin, Paris, France
6. Neurologie Pédiatrique - INSERM U781 -, Hopital Necker Enfants Malades-Institut Imagine, Paris, France

**Auteur correspondant :** Bahi-Buisson Nadia (nadia.bahi-buisson@nck.aphp.fr)

Les polymicrogyries (PMG) sont des anomalies de développement du cortex cérébral les plus fréquentes et hétérogènes. Elles sont responsables de degrés variables d'encéphalopathies, d'épilepsies et de retards psychomoteurs. Malgré les progrès de la neuroradiologie et les efforts de classification, ces malformations demeurent hétérogènes et la plupart sont d'étiologies indéterminées.

Les objectifs de notre étude sont de proposer une démarche diagnostique devant un patient présentant une PMG ainsi qu'une classification opérationnelle pour la recherche moléculaire et la pratique clinique.

Nous avons réalisé une étude rétrospective monocentrique (Hôpital Necker Enfants Malades - Paris) de 74 patients atteints de PMG selon les critères reconnus en imagerie IRM. Pour chaque patient ont été recueillies : les données d'imagerie avec recherche de signes extra corticaux associés, les données cliniques et les éventuelles étiologies génétiques ou clastiques. Trois groupes de patients ont été constitués en fonction de leur topographie diffuse (n=14), multifocale (n=57) ou focale (n=3). Aucune corrélation n'a été montrée entre la topographie et les signes extra corticaux ou le phénotype clinique. En revanche, les diagnostics génétiques, présents chez 1/3 des patients étaient toujours accompagnés de signes caractéristiques clinico-radiologiques évocateurs.

Ainsi, nous proposons à l'issue de ce travail une nouvelle classification basée sur le tableau clinico-radiologique afin de simplifier les démarches étiologiques et guider la recherche moléculaire de ces malformations complexes.

**Mots-clefs :** Malformations corticales, Polymicrogyrie, Encephalopathie

## Développement et foetopathologie

**B015/#473**

### Mise en évidence de CNVs responsables de microphthalmie/anophtalmie par analyse de données de séquençage haut débit sur capture de gènes ciblée

Olivier Patat (1), Dominique Bourgeois (1), Laurence Bouneau (1), Bruno Leheup (2), Massimiliano Rossi (3), Annick Toutain (4), Patrick Calvas (1,5), Nicolas Chassaing (1,5)

1. CHU Toulouse, Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, CHU de Nancy, Vandoeuvre, France
3. Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, Bron, France
4. Département de Génétique, CHU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France
5. Université Paul-Sabatier Toulouse III, EA-4555, CPTP, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Chassaing Nicolas (chassaing.n@chu-toulouse.fr)

Les micro/anophtalmies (M/A) sont les plus sévères des malformations de l'œil. Leur incidence est estimée à 1 sur 10000 naissances. La microphthalmie est définie par une diminution de la longueur axiale de l'œil, l'anophtalmie par une absence de structure oculaire. Les M/A peuvent être isolées, mais sont souvent associées à d'autres malformations oculaires (M/A complexes), parfois à une déficience intellectuelle, ou à des malformations d'organes (M/A syndromiques). Les causes d'origine génétique sont prépondérantes, et le risque de récurrence de M/A dans la fratrie d'un cas index est estimé entre 10 % et 15 %. Une importante hétérogénéité génétique a été démontrée, et de nombreux gènes ont été impliqués dans les M/A. Malgré des analyses poussées des gènes connus, les anomalies causales ne sont identifiées que dans 25 à 40 % des cas.

Pour identifier de nouveaux gènes de M/A, nous avons utilisé une approche par séquençage haut débit ciblée de 407 gènes candidats chez 24 patients sélectionnés dans une cohorte de M/A. Outre l'analyse des données de séquence qui a notamment permis l'identification d'un nouveau gène de M/A, PTCH1, nous avons recherché la présence de CNV par une méthode simple basée, pour chaque sonde de capture, sur la comparaison de la profondeur de lecture chez chaque patient par rapport aux autres patients de la cohorte considérés comme témoins. Des délétions ou duplications ont été ainsi identifiées chez 4 patients. L'un de ces CNV était un polymorphisme connu. Les trois autres ont été confirmés par QMPSF ou CGH array. Une délétion hétérozygote de l'ensemble du gène STRA6, impliqué dans des formes autosomiques récessives de M/A, a été mise en évidence chez l'un des patients, porteur sur l'autre allèle d'une mutation ponctuelle hémizygotique. Un autre patient présentait une duplication du gène VSX2, gène dont des mutations récessives perte de fonction sont associées aux M/A. Cette duplication était héritée d'une mère pauci-symptomatique ayant une large excavation papillaire. L'analyse de ségrégation familiale a pu démontrer que la duplication était apparue de novo chez la mère du patient. L'analyse de la séquence n'a pas retrouvé de mutation ponctuelle dans VSX2. Enfin, un autre patient était porteur d'une duplication partielle du gène FAT1. Cette duplication a été confirmée par CGH array, mais avec une discordance concernant sa taille. Les prélèvements des parents n'étaient pas disponibles. Le gène FAT1 n'a jusqu'à présent jamais été impliqué dans les M/A chez l'Homme. Le KO du gène Fat1 chez la souris entraîne une anophtalmie chez 40 % des souriceaux et des anomalies rénales (absente chez notre patiente).

Ces résultats permettent de confirmer la possibilité d'identifier des microremaniements à partir des données du séquençage haut débit.

**Mots-clefs :** microphthalmie, CNV, NGS

## Développement et foetopathologie

**B016/#479**

### Un nouveau cas de micro délétion 19p13.12 chez un fœtus présentant une microcéphalie sévère avec des kystes para-ventriculaires

Solveig Heide-Guihard (1), Sandra Chantot-Bastaraud (1), Boris Keren (2), Capucine Hyon (3), Nicole Joyé (4), Marie-Laure Moutard (5), Antoinette Gelot (6), Romulus Grigorescu (1), Jean-Pierre Siffroi (7), Isabelle Marey (8), Delphine Héron (8)

1. Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Génétique et Embryologie Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Service d'Anatomie Pathologique, Unité de Neuropathologie, Hôpital Trousseau, Paris, France
7. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Chantot-Bastaraud Sandra (sandra.chantot-bastaraud@trs.aphp.fr)

Le chromosome 19 est l'un des chromosomes le plus riche en gènes (24 gènes codant pour des protéines par Mb en moyenne). En conséquence des réarrangements, même de petites tailles peuvent être létaux, ce qui explique probablement le faible nombre de cas rapportés de remaniement de ce chromosome dans la littérature. Ainsi, des délétions 19p13.1 de tailles variables et partiellement chevauchantes ont-elles été décrites chez moins de 10 patients. Le phénotype associe diversement un retard mental modéré à sévère, des malformations cérébrales dans deux cas (une hypoplasie ponto-cérébelleuse et une hypoplasie mineure du corps calleux associée à une hypoplasie vermienne), une microcéphalie dans un cas, une surdité neurosensorielle, des malformations des oreilles, une hypertrichose ou encore un synophris. A l'exception d'un sujet décédé à J45 dans un contexte d'hypoplasie ponto-cérébelleuse, il s'agit de patients diagnostiqués dans l'enfance. Nous avons identifié un nouveau cas de délétion 19p13.1 d'environ 1,1Mb intéressant 29 gènes et survenue de novo chez un fœtus pour lequel une interruption médicale de grossesse a été réalisée à 38SA en raison d'une microcéphalie sévère associée à des kystes para-ventriculaires. Cette micro délétion est totalement couverte par les 3 cas de délétions 19p13.1 déjà décrits comme étant associés à des anomalies cérébrales et contient le gène NOTCH3. Les mutations de NOTCH3 sont associées au syndrome de CADASIL, une artériopathie autosomique dominante avec infarctus sous corticaux et leuco-encéphalopathie. Les mutations responsables de ce syndrome sont des mutations gains de fonction avec une modification du nombre de cystéines au niveau des domaines EGF(Epidermal Growth Factor), responsable d'une accumulation de la protéine NOTCH3 mutée au niveau membranaire dans les petites artères. En revanche, les conséquences d'une haplo insuffisance de NOTCH3 ne sont pas connues. Néanmoins, en raison de son rôle dans la neurodégénérescence, l'haplo-insuffisance de ce gène pourrait contribuer aux anomalies cérébrales identifiées chez ce fœtus et dans les 3 cas déjà rapportés ainsi qu'au déficit cognitif observé chez les autres patients délétés.

**Mots-clefs :** Microcéphalie, Microdélétion 19p13.1, NOTCH3

**Développement et foetopathologie****B017/#500****Altération de la voie Shh dans les amniocytes de trisomie 18 et de SLO associée au déficit en cholestérol**

Nicolas Gruchy (1), Nicolas Bigot (2), Corinne Jeanne-Pasquier (3), Marie-Hélène Read (4), Sylvie Odent (5), Philippe Galéra (6), Nathalie Leporrier (1)

1. Service de génétique, CHU Côte de Nacre, Caen, France
2. Laboratoire MILPAT EA 4652, UFR Médecine, Caen, France
3. Service d'anatomo-pathologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France
4. Service de Biochimie métabolique, CHU Côte de Nacre, Caen, France
5. Génétique des pathologies liées au développement, CNRS UMR6290 UFR Médecine, Rennes, France
6. Laboratoire Microenvironnement Cellulaire et Pathologie (MILPAT) EA4652, UFR Médecine, Caen, France

**Auteur correspondant** : Gruchy Nicolas (gruchy-n@chu-caen.fr)

La trisomie 18 (T18) et le syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO) sont 2 syndromes polymalformatifs pour lesquels un déficit en cholestérol est observé (Lam et al., 2006, Kelley et al., 2000). En prénatal, ils s'associent à un taux effondré d'œstriol non conjugué maternel (uE3), marqueur du 2ème trimestre du dépistage de la trisomie 21, qui reflète le taux de cholestérol fœtal (Kelley 2001, Leporrier et al., 1996). L'ajout post-traductionnel de cholestérol joue un rôle essentiel dans la voie de signalisation Sonic Hedgehog (Shh), assurant une maturation de la protéine Shh afin de lui conférer son activité maximale. Parmi les malformations observées, un certain nombre surviennent au niveau de tissus où Shh joue un rôle primordial, comme au niveau de la face ou des membres. L'objectif de cette étude était de déterminer si le déficit en cholestérol était à l'origine de l'altération de la voie Shh et pouvait expliquer certaines des malformations.

Cette étude rétrospective a porté sur 14 cas de trisomie 18 et 3 cas de SLO fœtaux dont les amniocytes avaient été congelés. Les données foetopathologiques, le nombre de malformations ont été corrélées aux taux d'uE3 maternel.

Afin d'analyser la voie Shh, nous avons dans un premier temps dosé le taux de cholestérol dans le milieu de culture d'amniocytes de trisomie 18, SLO et de témoins par chromatographie liquide associée à la spectrométrie de masse en tandem puis testé l'expression de différents gènes de la voie Shh par RT-PCR quantitative : les facteurs de transcription Gli, et plusieurs gènes cibles de Shh impliqués dans la morphogenèse osseuse : BMP2, BMP4, TGFβ1, COL1A1 et COL1A2. Enfin l'expression de ces gènes a été évaluée dans des amniocytes témoins traités par un inhibiteur de synthèse du cholestérol.

Au sein de notre cohorte, il existe une corrélation inverse entre la sévérité phénotypique et le taux maternel d' uE3 dans le SLO et la trisomie 18. Le taux de cholestérol dosé dans le milieu de culture d'amniocytes est corrélé au taux maternel d'uE3 et significativement plus bas dans les amniocytes de T18 et de SLO, reflétant le déficit en cholestérol. L'altération de la voie Shh dans les amniocytes de T18 et SLO associée au déficit en cholestérol s'exprime par une diminution d'expression des gènes testés. Néanmoins, cette perturbation n'est pas significative dans les amniocytes traités par un anti-cholestérol, suggérant l'implication d'autres mécanismes à l'origine de l'altération de la voie Shh et des malformations observées.

**Mots-clés** : Sonic hedgehog, Trisomie 18, Smith Lemli Opitz**Développement et foetopathologie****B018/#509****Tétrasonie 21 en mosaïque chez un fœtus féminin avec malformation cardiaque complexe isolée à l'échographie du second trimestre.**

Vincent GATINOIS (1), Nicole BIGI (2), Carole CORSINI (3), Clémence RAGON (4), Eve MOUSTY (5), Yuri MUSIZZANO (6), Anne-Marie CHAZE (1), Geneviève LEFORT (1), Manon GIRARD (1), Magali TOURNAIRE (1), Emmanuelle HAQUET (3), Anouck SCHNEIDER (1), Sylvie TAVIAUX (1), Franck PELLESTOR (1), Patricia BLANCHET (3), Patrick CALLIER (4), Jean CHIESA (7), Pierre SARDA (3), David GENEVIEVE (3), Jacques PUECHBERTY (3), Marie-Josée PEREZ (2)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Unité de Foetopathologie, Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital du Bocage, Dijon, France
5. Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Carémeau, Nîmes, France
6. Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologique, Hôpital Gui-de-Chauliac, Montpellier, France
7. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Carémeau, Nîmes, France

**Auteur correspondant** : GATINOIS Vincent (v-gatinois@chu-montpellier.fr)

La tétrasonie 21 est une aneuploïdie cytogénétique rarement décrite à la naissance mais souvent retrouvée dans les leucémies aiguës. Moins de 10 cas ont été rapportés dans la littérature et la tétrasonie 21 a souvent été confondue avec la tétrasonie 12p (syndrome de Pallister-Killian). Le phénotype ressemble fortement à celui de la trisomie 21.

Nous décrivons un cas de tétrasonie 21 en mosaïque chez un fœtus féminin issu de parents sains non apparentés (âge maternel : 39 ans). L'échographie du 1er trimestre n'a pas décelé d'anomalie morphologique (clarté nucale à 2 mm pour une longueur crânio-caudale à 77 mm) et les marqueurs sériques maternels plaçaient la patiente dans un groupe à faible risque pour la trisomie 21 (1/2500). L'échographie du second trimestre à 22 semaines d'aménorrhée (SA), a mis en évidence un Canal Atrio-Ventriculaire (CAV) complet sans attache septale visualisée. Sur le liquide amniotique, une FISH rapide sur noyaux à la recherche des principales aneuploïdies (chromosomes 13, 18 et 21) ainsi que l'examen du caryotype n'ont pas montré d'anomalie (formule chromosomique : 46,XX). En raison de la sévérité de la malformation cardiaque, une interruption médicale de grossesse a été discutée avec les parents et réalisée à 30 SA. L'examen foetopathologique a mis en évidence une dysmorphie faciale (visage lunaire, profil plat, fentes palpébrales obliques en haut et en dehors, hypertélorisme, replis sous orbitaux marqués, interposition de la langue, oreilles mal ourlées), des bras courts, des mains larges, une confirmation de la malformation cardiaque complexe (oreillette unique et CAV intermédiaire déséquilibré au dépens du cœur gauche) et des radiographies osseuses normales : ces traits phénotypiques sont très fortement évocateurs d'une trisomie 21. L'analyse par puce à ADN après extraction de tissu pulmonaire a montré la présence de 3 copies pour l'ensemble des marqueurs correspondant au chromosome 21. La FISH interfascique sur appositions de poumon, foie et thymus a mis en évidence, respectivement et pour chacun de ces tissus : une mosaïque tétrasonie 21/trisomie 21 (74,5%/4,5%), 4% de tétrasonie 21 et pas d'aneuploïdie. Le phénotype de bas grade de tétrasonie 21 est très proche de celui de la trisomie 21.

Cette observation confirme l'intérêt de l'examen fœtal après une interruption médicale de grossesse. La discordance entre un caryotype normal et un phénotype en faveur d'une trisomie 21 doit faire évoquer et rechercher une mosaïque de trisomie 21 ou de tétrasonie 21 sur plusieurs tissus. La présence d'anomalies phénotypiques avec un caryotype fœtal normal indique la réalisation d'une étude pangénomique par puces à ADN.

**Mots-clés** : Tétrasonie 21 en mosaïque, Diagnostic prénatal, Canal Atrio-Ventriculaire



**Développement et foetopathologie****B019/#513****Nouvelles mutations du gène ALDH1A3 dans l'anophtalmie**

Charlotte Gautier (1), Nicola Ragge (2,3), Christine Rieubland (4), Béatrice Atlan (5), Lucas Fares-Taie (6), Sylvie Gerber (6), Jean-Michel Rozet (6), Patrick Calvas (1,5), Nicolas Chassaing (1,5)

1. CHU Toulouse, Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France;
2. Oxford Brookes University, Oxford OX1 3QX, UK
3. Wessex Clinical Genetics Service, University Hospital Southampton, Southampton SO 16 5YA UK
4. Division of Medical Genetics, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Switzerland
5. Université Paul-Sabatier Toulouse III, EA-4555, CPTP, Toulouse, France;
6. INSERM U781 & Department of Genetics, Paris Descartes University, 75015 Paris, France

**Auteur correspondant** : Chassaing Nicolas (chassaing.n@chu-toulouse.fr)

Les micro/anophtalmies (M/A) sont les plus sévères des malformations de l'œil. Leur incidence est estimée à 1 sur 10000 naissances. La microphthalmie est définie par une diminution de la longueur axiale de l'œil, l'anophtalmie par une absence de structure oculaire. Les M/A peuvent être isolées, mais sont souvent associées à d'autres malformations oculaires (M/A complexes), parfois à une déficience intellectuelle, ou à des malformations d'organes (M/A syndromiques). Les causes d'origine génétique sont prépondérantes, et le risque de récurrence de M/A dans la fratrie d'un cas index est estimé entre 10 % et 15 %. Une importante hétérogénéité génétique a été démontrée, et de nombreux gènes ont été impliqués dans les M/A. Malgré des analyses poussées des gènes connus, les anomalies causales ne sont identifiées que dans 25 à 40 % des cas.

Nous avons récemment participé à l'identification du gène ALDH1A3 (A3 isoform of the aldehyde dehydrogenase 1) dans 3 familles consanguines de microphthalmie/anophtalmie (M/A). Ce gène code pour une enzyme impliquée dans le métabolisme de la vitamine A en acide rétinol. Le phénotype oculaire associé aux mutations de ce gène est souvent bilatéral et variable en sévérité (du colobome isolé à l'anophtalmie). Certains des patients présentent des troubles autistiques et/ou un retard des acquisitions. En dehors d'une atteinte cardiaque décrite chez un patient, et il n'y a pas de phénotype extra-oculaire connu à l'heure actuelle.

Depuis la description de mutations dans ce gène, des mutations ont été identifiées dans 8 familles différentes. Il s'agit majoritairement de mutations faux-sens qui sont supposées entraîner un défaut d'homotétramérisation à l'origine d'une dégradation accrue des protéines. Cette dégradation prématurée des protéines a été montrée par Western-Blot pour les deux mutations faux-sens identifiées dans les familles de l'article princeps.

Par une approche de séquençage d'exome, nous avons identifié une mutation faux-sens homozygote dans une famille consanguine d'anophtalmie et une mutation faux-sens hétérozygote chez un cas sporadique de microphthalmie. Ces deux variations touchent un acide aminé conservé dans l'évolution, sont absentes des bases de données et prédites in silico pour être délétères. Nous avons pu démontrer par analyse en Western-Blot, le caractère délétère de ces deux mutations faux-sens qui entraînent une diminution majeure de la quantité de protéine exprimée. Le séquençage Sanger n'a pas permis de retrouver de deuxième mutation chez le patient hétérozygote.

Ces données permettent d'enrichir nos connaissances sur l'implication du métabolisme de l'acide rétinol dans le développement oculaire.

**Mots-clés** : microphthalmie, anophtalmie, ALDH1A3

**Développement et foetopathologie****B020/#530****Etude en Analyse Chromosomique sur Puces à ADN de 100 fœtus porteurs de malformations cérébrales syndromiques**

Eudeline ALIX (1), Anne-Lise DELEZOIDE (2), Jessica MICHEL (1), Jelena MARTINOVIC-BOURIEL (3), Audrey LABALME (1), Marie GONZALES (4), Carine ABEL (5), Fabienne ALLIAS (6), Cristina ANTAL (4), Jocelyne ATTIA (7), Claire BARDEL (8), Brigitte BENZACKEN (9), Nicole BIGI (10), Patricia BLANCHET (10), Dominique BOGGIO (7), Raymond BOUVIER (11), Annie BUENERD (11), Marie-Pierre CORDIER (1), Christine COUBES (10), Klaus DIETERICH (12), Frédérique DIJOU (11), Mad-Hélène ELSSENHORN (8), Catherine FALLET-BIANCO (13), Sophie FRACHON-COLLARDEAU (11), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (14), Romulus GRIGORESCU (4), Laurent GUIBAUD (15), Pierre-Simon JOUK (12), Frédérique LEBRETON (16), Jérôme MASSARDIER (17), Charlotte MECHLER (18), Sophie PATRIER (4), Fanny PELLUARD (19), Marie-José PEREZ (10), Lucile PINSON (10), Marie-Hélène SAINT-FRISON (4), Caroline SCHLUTH-BOLARD (1), Jean-Pierre SIFFROI (4), Audrey VICHIER-CERF (7), Alexandre VASILJEVIC (11), Fabien GUIMIOT (2), Pascal ROY (8), Tania ATTIE-BITACH (20), Féréchté ENCHA-RAZAVI (20), Damien SANLAVILLE (1)

1. Service de Génétique et UCBL1, GHE, HCL, Lyon, France
2. Service de biologie du développement et Université Paris-Cité-Sorbonne, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Unité de Foetopathologie, Laboratoire Cerba et Hôpital Antoine Bécclère, Cergy / Paris, France
4. Service de génétique et embryologie médicales et UPMC-Sorbonne, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. Service de Génétique, Hôpital de la Croix Rousse, HCL, Lyon, France
6. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital de la Croix Rousse, HCL, Lyon, France
7. Unité de diagnostic prénatal, GHS, HCL, Lyon, France
8. Service de Biostatistique, CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Equipe Biostatistique-Santé, CHLS, HCL / UCBL1, Lyon, France
9. Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Biologie de la Reproduction, CECOS, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
10. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
11. Centre de Pathologie Est, GHE, HCL, Lyon, France
12. Département de Génétique, CHU de Grenoble, Grenoble, France
13. Département de Pathologie, Unité de Neuropathologie, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada
14. Service de Génétique Clinique, CLAD-Ouest, CHU de Poitiers, Poitiers, France
15. Service d'Imagerie Pédiatrique et Foetale, GHE, HCL, Lyon, France
16. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France
17. Unité de diagnostic prénatal, GHE, HCL, Lyon, France
18. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
19. Service d'Anatomopathologie, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
20. Service d'Histo-embryologie et de Cytogénétique, Hôpital Necker, Paris, France

**Auteur correspondant** : ALIX Eudeline (eudeline.alix@chu-lyon.fr)

Les malformations congénitales touchent environ 2,5 % des naissances vivantes. Elles constituent un ensemble hétérogène, souvent de nature sporadique et pour lesquelles les anomalies cérébrales sont au premier plan. L'identification en période prénatale de malformations cérébrales conduit fréquemment à une IMG. L'examen foetopathologique retrouve, dans environ 50 % des cas, une dysmorphie crâniofaciale ou d'autres malformations associées. Dans ce contexte, un certain nombre d'étiologies (infectieuse, toxique, vasculaire ou encore génétique) sont évoquées mais aucune explication ne peut être proposée pour 50 % des cas.

Nous avons réalisé, par ACPA, une étude visant à mettre en évidence des CNVs au sein d'une cohorte de 100 fœtus porteurs, dans un cadre syndromique, de malformations cérébrales réparties en 4 groupes (défaut de fermeture du tube neural, hypoplasie du cervelet, anomalie de développement des commissures ou microcéphalie). L'objectif est d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans le développement cérébral. Pour cette étude, les ADN ont été extraits de tissus fœtaux et

une ACPA a été réalisée sur des puces 180 K de la société Agilent. Le caractère hérité ou de novo a été vérifié soit par FISH, soit par qPCR pour les CNVs non répertoriés dans les bases de données des polymorphismes (DGV).

Les fœtus ont été inclus grâce à la participation de différents services de foetopathologie, de cytogénétique et de biobanques ainsi que grâce à la collaboration de la SOFFOET. Au total, 10 anomalies de novo, 3 anomalies héritées et 4 anomalies en attente d'établissement du statut ont été classées comme pathogènes, soit 17% des fœtus étudiés. Plusieurs CNVs comprenant des gènes déjà connus pour leur implication dans le développement et les malformations cérébrales ont été identifiés, par exemple : délétion 1p32.2p31.3 de 11 Mb de novo comprenant le gène NF1A chez un fœtus présentant une agénésie calleuse ; délétion 16p13.11 de 1,13 Mb de novo comportant le gène NDE1 chez un fœtus présentant une microcéphalie. Nous avons aussi décrit pour la première fois un fœtus féminin avec une hypoplasie cérébelleuse présentant une délétion partielle de novo du gène OPHN1. D'autres anomalies chromosomiques de novo d'interprétation plus difficile ont été mises en évidence et des études complémentaires sont en cours pour identifier le(s) gène(s) responsable(s) du phénotype.

De plus, 11 fœtus présentent des VOUS. Enfin, des études géniques complémentaires ont mis en évidence des mutations dans des gènes récemment identifiés (U4ATAC : syndrome du Taybi-Linder ; EFTUD2 : syndrome de dysostose mandibulo-faciale et microcéphalie; MKS6 : syndrome de Meckel).

Cette étude nous a permis de confirmer l'implication de certains gènes dans les malformations cérébrales ainsi que d'identifier de nouveaux CNV pathogènes. Nous présenterons ici nos résultats et discuterons du rôle potentiel dans les malformations cérébrales de gènes présent dans ces nouveaux CNVs.

**Mots-clefs** : Malformations cérébrales, ACPA, Foetopathologie

## Développement et foetopathologie

B021/#552

### Agénésie du corps calleux révélant un syndrome oro-facio-digital de type 1 (OFD1) en foetopathologie: implication du cil primaire dans les anomalies du corps calleux

Caroline Alby (1), Marie Gonzales (2), Maryse Bonnières (3), Estelle Lopez (4), Jean Baptiste Rivière (4), Bernard Aral (4), Pascal Sonigo (5), Yves Ville (6), Claude Vibert-Guigüe (7), Vanina Castaigne (8), Bruno Carbonne (8,9), Nicole Joyé (2,9), Véronique Soupre (10), Marie-Paule Vasquez (9,10), Laurence Faivre (4), Féréchté Razavi (1,3), Tania Attié-Bitach (1,3), Christelle Thauvin-Robinet (4)

1. INSERM U781, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, APHP, UPMC Sorbonne Universités, Paris, France
3. Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker, APHP, Paris, France
4. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Grand-Est, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
5. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Grand-Est, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
6. Service de Radiologie Pédiatrique, Hopital Necker – Enfants Malades, Paris, France
7. Service de Gynécologie Obstétrique, Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
8. Service de Gynécologie-Obstétrique, maternité, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
9. Service de Gynécologie-Obstétrique, Maternité, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
10. Service de Gynécologie-Obstétrique, Maternité, Hôpital Saint Antoine, APHP, UPMC Sorbonne Universités, Paris, France
11. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, APHP, UPMC Sorbonne Universités, Paris, France
12. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Grand-Est, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
13. INSERM U781, Institut Imagine; Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Université Paris Descartes; Hôpital Necker, APHP, Paris, France

**Auteur correspondant** : Alby Caroline (caroline.alby@gmail.com)

Le syndrome orofaciodigital de type 1 (OFD1) est un syndrome polymalformatif rare, léthal chez le garçon, caractérisé par des malformations craniofaciales et digitales et possiblement d'anomalies du système nerveux central (SNC) et des reins. Son incidence est estimée à 1/250,000 à 1/50,000 naissances. Il est dû à une mutation du gène OFD1 localisé sur le chromosome X, dont les mutations sont le plus souvent de novo (75%), mais des formes familiales sont possibles avec expression variable de la maladie. Le gène OFD1 code pour une protéine impliquée dans sa croissance du centriole, la formation de l'appendice distal et la ciliogénèse. L'OFD1 appartient donc au groupe des ciliopathies. Nous rapportons deux observations fœtales révélées par une agénésie du corps calleux à l'échographie du deuxième trimestre de grossesse et pour lesquelles l'examen foetopathologique a permis le diagnostic d'OFD1 chez des fœtus de sexe féminin.

L'examen foetopathologique réalisé respectivement à 26 et 27 SA a révélé dans les deux cas des anomalies orofaciales et digitales associées, orientant vers le diagnostic d'OFD1. Les deux fœtus avaient une langue bifide, un fœtus avait une fente palatine et l'autre des freins gingivaux et un hamartome lingual. L'un avait une hexadactylie préaxiale de l'hallux alors que l'autre présentait une syndactylie IV-V de la main gauche. L'examen neuropathologique a confirmé l'agénésie du corps calleux associée dans les 2 cas à des kystes arachnoïdiens, une polymicrogyrie, une dysplasie cérébelleuse avec une hétérotopie majeure de cellules de Purkinje. Le diagnostic d'OFD1 a été confirmé par la mise en évidence d'une mutation du gène OFD1 dans les deux cas, une fois de novo ayant permis un conseil génétique rassurant.

A notre connaissance il s'agit des premiers cas de primo diagnostic de syndrome OFD1 en anténatal, tous deux révélés par une agénésie du corps calleux dès 21 SA, en plus d'un autre fœtus féminin rapporté

précédemment comme possible OFDVI (Lesca et al., AJMG, 2006), interrompu à 21SA pour dysgénésie cérébrale comprenant une agénésie du corps calleux et chez qui une mutation du gène OFD1 a récemment été identifiée aussi. Ces observations illustrent l'importance de l'examen foetopathologique dans l'identification de la cause après interruption médicale de grossesse pour anomalie cérébrale apparemment isolée, et en particulier pour agénésie du corps calleux. Elles posent plus généralement la question de la contribution des gènes ciliaires dans les agénésies du corps calleux dont l'exploration est en cours dans le cadre d'un projet de recherche qui sera présenté.

**Mots-clefs** : Agénésie du corps calleux, syndrome oro facio digital de type 1, diagnostic pré natal

## Développement et foetopathologie

B022/#581

---

### Microdélétion homozygote du gène CEP290 chez un fœtus présentant un syndrome de Meckel

Sylvie Jaillard (1), Vincent Jauffret (1), Chloé Quélin (2), Josette Lucas (1), Christèle Dubourg (3), Laurent Pasquier (2), Catherine Henry (1), Gwenaëlle Le Bouar (4), Véronique David (3), Sylvie Odent (2), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (1), Philippe Loget (5)

1. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France

2. Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France

3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France

4. Service de Médecine Foetale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France

5. Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Foeto-pathologie, CHU Pontchaillou, Rennes, France

**Auteur correspondant** : Jaillard Sylvie (sylviejaillard@yahoo.fr)

Nous rapportons le cas d'un syndrome polymalformatif visualisé à l'échographie du premier trimestre associant une encéphalocèle occipitale et des reins volumineux et micropolykystiques. Le caryotype prénatal en bandes RHG (villosités choriales) a montré un fœtus de sexe masculin sans anomalie chromosomique visible. Une interruption médicale de grossesse a été réalisée à 16 semaines d'aménorrhée et a confirmé la présence d'anomalies cérébrales (méningo-encéphalocèle, agénésie vermienne et kyste de la fosse postérieure) et rénales (polykystose glomérulotubulaire avec gradient cortico-médullaire). Il existait en plus une dysmorphie faciale, une polydactylie post-axiale au niveau de la main droite, des pieds bots et une fibroadénomatose biliaire. Un syndrome de Meckel était suspecté devant l'existence des lésions rénales et hépatiques. Malgré le mode de transmission autosomique récessif de cette ciliopathie, une analyse chromosomique par puce à ADN a été réalisée et a mis en évidence une délétion homozygote de 47 kb en 12q21.32, impliquant une grande partie du gène CEP290. Des mutations bialléliques de ce gène ainsi que l'association mutation et microdélétion sont rapportées dans la littérature. Il s'agit par contre de la première description d'un cas de délétion homozygote de ce gène. Des analyses par FISH sont en cours afin de rechercher la présence de cette microdélétion 12q21.32 chez les parents. Cette observation illustre le rôle potentiel des déséquilibres chromosomiques cryptiques dans les pathologies autosomiques récessives.

**Mots-clefs** : syndrome de Meckel, délétion homozygote, CEP290

## Développement et foetopathologie

B023/#664

### Une patiente avec de nouvelles données permettant d'amener un éclairage au syndrome Epilepsie focale-Dysplasie Corticale (CFDE), pathologie épileptique récessive impliquant le gène CNTNAP2

Fabienne GIULIANO (1), Catherine FOSSOUD (2), Chantal MISSIRIAN (3), Annabelle CHAUSSÉNOT (1), Saskia BISKUP (4), Veronique PAQUIS-FLUCKLINGER (1), Anne MONCLA (3)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, Nice, France
2. Centre de Référence des troubles des apprentissages, Hôpitaux pédiatriques de Nice, Nice, France
3. Département de Génétique Médicale, Hôpital La Timone Enfants, Marseille, France
4. Center for Genomics and Transcriptomics, CeGa and Praxis for Human Genetics, Tubingen, Allemagne

**Auteur correspondant :** GIULIANO Fabienne (giuliano.f@pediatrie-chulenva-nice.fr)

Le gène CNTNAP2, localisé en 7q35-36 code pour une protéine transmembranaire neuronale appartenant à la famille des neurexines. Cette protéine est impliquée dans l'interaction entre les neurones et les cellules gliales et dans le regroupement des canaux potassium dans les axones myélinisés.

CNTNAP2 a été impliqué dans le syndrome « Epilepsie Focale-Dysplasie Corticale » (CFDE) de transmission autosomique récessive, rare puisque seulement 9 cas ont été rapportés dans la littérature en 2006 [Strauss et al.]. Dans ces 9 cas une mutation homozygote du gène d'intérêt a été identifiée. Le tableau clinique décrit comporte un retard de développement, une épilepsie apparaissant après l'âge de 14 mois, une régression des acquisitions à l'apparition de celle-ci avec notamment apparition de troubles du comportement souvent de la lignée autistique, un périmètre crânien plutôt élevé, des réflexes ostéo-tendineux qui peuvent être abolis ou faibles et les anomalies de l'IRM cérébrale qui ont donné le nom au syndrome mais ne sont présentes que dans moins de la moitié des cas.

Nous rapportons ici une jeune fille de 16 ans 7 mois qui est suivie dans le cadre d'une déficience cognitive modérée associée à une épilepsie qui a débuté vers 3 mois, un trouble du comportement (agressivité et stéréotypies mais sans anomalie du contact). A l'examen on note surtout une ataxie et des réflexes ostéo-tendineux faibles. L'EMG a objectivé une atteinte axonale sensitivo motrice distale. Une IRM cérébrale a noté initialement une dysplasie du lobe temporal gauche avec atrophie de la fosse postérieure puis plus récemment une probable atrophie ponto-cérébelleuse. Son parcours a été émaillé par un mélanome sur naevus bleu, une hypothyroïdie, puis par un œdème papillaire oculaire unilatéral.

L'analyse CGH array a permis de mettre en évidence une délétion partielle de CNTNAP2. Le tableau clinique de cette patiente pouvant évoquer le syndrome CFDE, nous a incité à rechercher une mutation de l'autre allèle de CNTNAP2. Le séquençage direct de ce gène a retrouvé une mutation faux-sens. Les analyses parentales sont en cours. A noter qu'un déficit du complexe IV mitochondrial a été identifié uniquement dans les fibroblastes sans mutation de l'ADNmt associée.

Il est intéressant de comparer le tableau de notre patiente à ceux décrits dans la littérature d'autant plus qu'il s'agit de la patiente la plus âgée connue à ce jour avec un âge d'apparition d'épilepsie le plus précoce. Il est donc important d'essayer de comprendre si l'œdème papillaire par exemple est en rapport avec la pathologie, ceci pour un meilleur suivi des patients. Notons que CNTNAP2 a été décrit dans des tableaux de type syndrome Pitt Hopkins like et impliqué en tant que facteur de susceptibilité dans l'autisme. Nous ferons la synthèse des données du mécanisme d'apparition, hétérozygote composite, décrit dans d'autres syndromes récessifs autosomiques.

**Mots-clés :** Epilepsie, Dysplasie corticale, Pitt-Hopkins like

## Développement et foetopathologie

B024/#666

### Amyoplasie : Données de l'IRM musculaire et comparaison avec la fonction motrice

Klaus Dieterich (1, 6, 7), Caroline Dubois (2), Frédérique Nugues (3), Adélaïde Marquer (5), Marie Jaeger (5), Bernadette Berger (4), Marie-Christine Commare (4), Dominique Perennou (5, 6), Laurence Pittet-Barbier (2), Pierre-Simon Jouk (1, 6)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Couple Enfant - CHU de Grenoble, Grenoble, France
2. Clinique Universitaire de Radiologie Médicale, Hôpital Sud - CHU de Grenoble, Grenoble, France
3. Clinique Universitaire de Radiologie Médicale, Hôpital Couple Enfant - CHU de Grenoble, Grenoble, France
4. Médecine Physique et Réadaptation, Hôpital Couple Enfant - CHU de Grenoble, Grenoble, France
5. Médecine Physique et Rééducation - Institut de rééducation Sud, CHU de Grenoble, Grenoble, France
6. Université de Grenoble, Grenoble, France
7. Equipe Muscle et Pathologies, Grenoble Institut des Neurosciences, Inserm U836, La Tronche, France

**Auteur correspondant :** Dieterich Klaus (klaus.dieterich@inserm.fr)

Contexte : L'amyoplasie est la forme clinique la plus fréquente des arthrogryposes multiples congénitales (AMC), un groupe hétérogène de maladies dont la caractéristique commune est la limitation des mouvements articulaires à la naissance à au moins deux niveaux articulaires différents. L'amyoplasie se présente avec une diminution des masses musculaires, un remplacement fibro-adipeux des masses musculaires et une position caractéristique des membres à la naissance (épaules en rotation interne, coudes en extension, poignets en flexion). La prise en charge par une rééducation articulaire et musculaire précoce, associée à une réduction de l'immobilisation lors des interventions chirurgicales, permet d'obtenir un excellent pronostic fonctionnel malgré des présentations à la naissance parfois très sévères. Porter le diagnostic d'amyoplasie rapidement permet une orientation thérapeutique et pronostique adéquate.

But : L'objectif de l'étude était d'une part de savoir s'il pouvait exister un patron d'atteinte musculaire particulière et caractéristique de l'amyoplasie en IRM musculaire, et d'autre part, de savoir s'il existait un lien entre l'infiltration fibro-adipeuse et la fonction motrice (force musculaire, patients déambulateurs ou non).

Patients et méthodes : Douze patients adultes avec un phénotype d'amyoplasie et examinés dans le Centre de Référence Anomalies du Développement du CHU de Grenoble ont bénéficié d'une IRMm (1,5T ; séquence pondérée en T1) des 4 membres (n = 10) ou des membres inférieurs (n = 2). Huit patients étaient déambulateurs, quatre non déambulateurs. L'infiltration fibro-adipeuse a été évaluée par le score de Mercuri. La force musculaire a été évaluée selon l'échelle MMRC.

Résultats : Tous les patients présentaient une infiltration fibro-adipeuse des muscles des membres inférieurs où il existait une certaine hétérogénéité de l'infiltration fibro-adipeuse pour un muscle donné et une atteinte asymétrique plus marquée au niveau des muscles des jambes. Les loges des adducteurs montraient une infiltration significativement moins importante par rapport aux autres groupes musculaires de la cuisse ou de la jambe (p < 0,01). La force musculaire et l'infiltration fibro-adipeuse n'était pas significativement différente entre les patients déambulateurs et non déambulateurs.

Discussion : Nous montrons qu'il existe un patron d'atteinte musculaire particulière chez nos patients avec une infiltration fibro-adipeuse significativement moins importante des loges des adducteurs par rapport aux autres loges musculaires des membres inférieurs. Ce patron d'atteinte musculaire peut apporter une aide diagnostique dans les formes moins typiques d'amyoplasie. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence entre l'infiltration fibro-adipeuse des membres inférieurs et la force musculaire développée par muscle ou groupe musculaire entre les patients déambulateurs et non déambulateurs.

**Mots-clés :** Amyoplasie, IRM musculaire, Arthrogrypose multiple congénitale



## Développement et foetopathologie

B025/#683

### Caractéristiques phénotypiques de la trisomie 13 en foetopathologie : cohorte de 42 fœtus.

Pascaline Létard (1), Fabien Guimiot (1), Emmanuel Spaggiari (1), Ghorghé Bonyhay (1), Françoise Menez (1), Anne-Lise Delezoide (1), Suonavy Khung-Savatovsky (1)  
1. Service de biologie du développement, Hôpital Robert Debré, AP-HP, PARIS, France

**Auteur correspondant :** Létard Pascaline (p\_letard@hotmail.fr)

La trisomie 13 (ou syndrome de Patau) est une anomalie chromosomique caractérisée par un syndrome polymalformatif dont la présentation clinique est bien connue. De nombreuses séries de patients nés vivants et porteurs de ce syndrome ont été décrites. Seule une série fœtale de 12 cas a été rapportée. Notre but a été de décrire la cohorte ayant bénéficié d'un examen foetopathologique dans notre centre depuis 1999 afin de pouvoir la comparer aux données de la littérature.

42 fœtus, 26 filles et 16 garçons, ont été examinés. 39 étaient porteurs d'une trisomie 13 libre et homogène. Les fœtus étaient âgés de 14 à 41 semaines d'aménorrhée avec une moyenne de 21 SA. L'examen standardisé au sein du laboratoire comprenait des photographies, des radiographies (face, profil et extrémités) à l'aide d'un Faxitron® (Hewlett-Packard) et un examen foetopathologique complet incluant l'examen neuropathologique.

Les principales malformations observées étaient similaires à celles décrites chez les patients nés vivants : cardiopathies (76%), anomalies des oreilles (69%), polydactylie (67%), anomalies du système nerveux central (60%), anomalies anogénitales (60%) et microphthalmie (53%). D'autres anomalies étaient accessibles grâce à l'examen foetopathologique: anomalies rénales (71%), inclusions spléniques intra-pancréatiques (42%), anomalies du situs intestinal (34%) et anomalies thyroïdiennes histologiques (21%). En ce qui concerne les données radiologiques, 88% des fœtus présentaient des anomalies autres que la polydactylie. Certaines anomalies semblaient non spécifiques de la trisomie 13 : nombre de côtes ossifiées anormal (60%), os propres du nez hypoplasiques ou absents (39%) et anomalies vertébrales à type de fentes ou d'hémivertèbres (7%). En revanche, 30% des fœtus avaient des phalanges distales des pouces ou hallux dupliquées voire tripliquées, signe non rapporté dans la littérature ou à très faible fréquence.

Par conséquent, l'apport de l'examen foetopathologique des fœtus porteurs de la trisomie 13 se situe à deux niveaux : quand le diagnostic est connu, il permet de compléter le phénotype et en particulier ici, de préciser les caractéristiques radiologiques ; quand le caryotype n'est pas connu devant un syndrome polymalformatif, l'association des éléments les plus spécifiques permet d'orienter vers le diagnostic de trisomie 13.

**Mots-clefs :** trisomie 13, phénotype foetal, examen radiologique

## Développement et foetopathologie

B026/#718

### Le syndrome oculo-palato-cérébral : à propos d'un cas et revue de la littérature

Ialla Laila Rifai (1), M Boukari (2), Elbekkay Chadli (3)  
1. Cytogénétique- Consultation de génétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc  
2. Ophtalmologie, Hôpital 20 août, Casablanca, Maroc  
3. Cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

**Auteur correspondant :** Rifai Laila (laila.rifai@pasteur.ma)

Le syndrome oculo-palato-cérébral est un syndrome rare se caractérisant par un retard mental associé à une microcéphalie, des anomalies du palais et des anomalies oculaires principalement une persistance hypertrophique du vitré primitif. Ce syndrome a été décrit seulement chez 5 patients à ce jour et la consanguinité dans 2 familles sur 3 est en faveur d'une hérédité autosomique récessive.

Nous rapportons dans ce travail un nouveau cas de syndrome oculo-palato-cérébral. Il s'agit d'un garçon de 3 ans issu de parents consanguins, dont le diagnostic s'est basé sur des critères cliniques et radiologiques. Il présente l'association de malformations suivantes : une microcéphalie, une fente palatine, une persistance hypertrophique du vitré primitive associée à une cataracte bilatérale, et une cryptorchidie bilatérale. Il présente également une dysmorphie faciale et un retard psychomoteur et staturo-pondéral (-3 DS).

A travers cette observation et une revue de la littérature, nous illustrons le rôle du généticien dans le diagnostic et le conseil génétique pour la prise en charge du syndrome oculo-palato-cérébral.

**Mots-clefs :** association malformative, récessif, retard mental

## Développement et foetopathologie

B027/#776

### Phénotype foetal du syndrome d'Ellis-van Creveld : à propos de 25 cas.

Elisabeth ALANIO (1), Jean-François BRUCH (2), Martine BUCOURT (3), Sophie COLLARDEAU-FRACHON (4), Rodolphe DARD (5), Anne Lise DELEZOIDE (6), Louise DEVISME (7), Dominique GAILLARD (5), Marie GONZALES (8), Corinne JEANNE-PASQUIER (9), Nicole LAURENT (10)

1. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Reims, Reims, France
2. Service d'anatomie et cytologies pathologiques, CH Chartres, Chartres, France
3. Service de foetopathologie, Hopital Jean Verdier, Bondy, France
4. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hopital Debrousse, CHU Lyon, Lyon, France
5. Service de génétique et biologie de la reproduction - CECOS, Hopital Maison Blanche, CHU Reims, Reims, France
6. Service de foetopathologie, Hopital Robert Debré, Paris, France
7. Service d'anatomie et cytologie pathologique, CHRU de Lille, Lille, France
8. Service de foetopathologie, Hopital Armand Trousseau, Paris, France
9. Service d'anatomie et cytologies pathologiques, CHU Caen, Caen, France
10. Service d'anatomie et cytologies pathologiques, CHU Dijon, Dijon, France

**Auteur correspondant :** DARD Rodolphe (rodolphe.dard@gmail.com)

Le syndrome d'Ellis-van Creveld (sEVC, MIM 22550), est une chondrodysplasie congénitale rare, qui entre dans le cadre des ciliopathies, de type polydactylies-côtes courtes et se transmet selon un mode autosomique récessif. Moins de 300 cas pédiatriques ont été rapportés et les 2 gènes impliqués connus (EVC1, EVC2) concernent seulement 60% des sEVC. Seulement 15 cas fœtaux sont rapportés dans la littérature, alors que le diagnostic prénatal peut être évoqué par échographie. Afin de préciser le phénotype foetal, une série de 25 fœtus avec 22 examens radiologiques et 20 autopsies a été collectée parmi les membres de la SOFFOET. Les signes cardinaux du sEVC ont été souvent retrouvés, avec une polydactylie (24/25), une micromélie (23/25) avec thorax étroit (18/25). Parmi les dérivés ectodermiques il existait des anomalies endobuccales (14/25) et unguéales (10/25). Une cardiopathie (17/20 cas autopsiés) était plus fréquente dans cette série que dans les cas rapportés dans la littérature (60%). L'atteinte rénale, rarement décrite, concernait 10/20 fœtus examinés. Une dysmorphie assez hétérogène a été notée pour 18/25 fœtus. Une anomalie cérébrale et 5 crâniennes ont été retrouvées. Les signes radiologiques classiquement décrits ont été observés, avec un acétabulum en trident (16/22), des côtes courtes et horizontales (14/22), des os longs courts (12/22), incurvés (8/22), avec des métaphyses élargies (11/22), une hypoplasie métacarpophalangienne (15/22). Parmi les 22 polydactylies avec radiographie, 18 étaient des postaxiales et bilatérales (11/18 limitées aux membres supérieurs). Pour 14/22, les rayons étaient complets et 7 avaient un 5ème métacarpien bifide et un fœtus présentait 2 métacarpiens médians en Y. Cette série permet d'enrichir les connaissances actuelles sur le phénotype foetal du sEVC, pour un meilleur dépistage prénatal et sera suivie d'un génotypage, afin de rechercher des mutations dans les gènes connus ou d'identifier d'autres gènes.

**Mots-clefs :** Ellis-van-creveld, Chondrodysplasie, dysplasie chondro-ectodermique

## Développement et foetopathologie

B028/#784

### Les effets des androgènes pendant le développement neuronal pourraient-ils en partie expliquer le biais de sexe observé dans l'autisme et la déficience intellectuelle ?

Angélique QUARTIER (1), Claire REDIN (1), Alexandra BENCHOUA (2), Fabien GUIMIOT (3), Anne-Lize DELEZOIDE (3), Jean-Louis MANDEL (1), Amélie PITON (1)

1. Département de Médecine Translacionnelle et Neurogénétique, IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France
2. I-Stem, INSERM U861, AFM, Evry, France
3. Département de Biologie du Développement, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France

**Auteur correspondant :** QUARTIER Angélique (quartier@igbmc.fr)

Les troubles du spectre autistique (TSA) et la déficience intellectuelle (DI) sont deux désordres neurodéveloppementaux présentant des chevauchements aussi bien au point de vue génotypique (mêmes gènes impliqués) que phénotypique (comorbidité importante). Une autre caractéristique commune est l'existence d'un biais de sexe, très fort pour les TSA (4 garçons pour 1 fille) et notable pour la DI (1,4 garçons pour 1 fille). Bien que de nombreux gènes sur le chromosome X soient impliqués dans la DI, et certains dans les TSA, les mutations rares et totalement pénétrantes dans ces gènes, si elles participent à cet excès de garçons, ne peuvent pas entièrement l'expliquer. L'origine de ce biais de sexe reste inconnu et nous avons donc décidé d'explorer l'une des hypothèses qui pourrait en partie expliquer la plus forte susceptibilité des garçons aux maladies neurodéveloppementales : le rôle de l'exposition prénatale aux androgènes pendant le développement du cerveau masculin. Plusieurs observations suggèrent une implication des androgènes prénataux dans les TSA : corrélation entre le taux de testostérone prénatal et la survenue de traits autistiques (travaux de l'équipe de S. Baron-Cohen), expression différentielle des gènes impliqués dans la synthèse des stéroïdes chez les individus autistes, etc. Il est clairement accepté que le récepteur aux androgènes (AR) est exprimé par diverses cellules du cerveau (en particulier les neurones) et que les androgènes possèdent une activité neuroprotective et modulent la densité synaptique dans différentes régions du cerveau. Cependant, comme très peu de choses sont connues en ce qui concerne les gènes cibles de l'AR dans les cellules neuronales, nous avons entrepris d'étudier le rôle des androgènes sur la régulation de l'expression génique dans des précurseurs neuronaux humains (NSC) dérivés de cellules souches embryonnaires (ESC), en utilisant deux approches complémentaires : RNAseq (analyse des variations d'expression après activation de l'AR) et ChIPseq (analyse des séquences génomiques fixées par l'AR). Nous analyserons la liste de gènes cibles de l'AR ainsi générée pour voir s'il existe des chevauchements entre les gènes et voies de signalisation régulés par les androgènes dans les cellules neuronales, et ceux impliqués dans le développement du cerveau et/ou connus pour être impliqués dans la DI et les TSA. Nous chercherons à mettre en évidence des variants dans les régions régulatrices de ces gènes, qui pourraient affecter la régulation de l'expression par les androgènes et être associés avec la DI ou les TSA. Au final, nous espérons augmenter les connaissances sur les gènes et les voies de signalisation régulés par les androgènes pendant le développement sur cerveau humain. Nous espérons que cela permettra de mettre en évidence des mécanismes génétiques et moléculaires impliqués dans la plus grande susceptibilité des garçons aux maladies neurodéveloppementales.

**Mots-clefs :** Maladies neurodéveloppementales, Biais de sexe, Androgènes

## Développement et foetopathologie

B029/#790

### Caractérisation de mutations récessives du gène Intégrine alpha 8 dans des formes familiales d'agénésie rénale bilatérale

Camille Humbert (1), Flora Silbermann (2), Mélanie Parisot (3), Christine Boyle-Feysot (3), Patrick Nitschké (4), Patricia Blanchet (5), Marie-José Perez (5), Yuliya Petrov (6), Philippe Khau Van Kien (6), Joëlle Roume (7), Brigitte Leroy (8), Bharti Morar (9), Luba Kalaydjieva (9), Alexandre Benmerah (10), Laurence Heidet (11), Corinne Antignac (10), Sophie Saunier (10), Cécile Jeanpierre (10)

1. Inserm U983, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
2. Inserm U983, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
3. Plateforme Génomique, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
6. Laboratoire de Génétique Médicale et Cytogénétique, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Nîmes, Hôpital Carémieu, Nîmes, France
7. Unité de Génétique Médicale, Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHI Poissy - St Germain-en-Laye, Poissy, France
8. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHI Poissy - St Germain-en-Laye, Poissy, France
9. Western Australian Institute for Medical Research, The University of Western Australia, Perth, Australie
10. Inserm U983, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
11. Centre de Référence des Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Jeanpierre Cécile (cecile.jeanpierre@inserm.fr)

Les hypodysplasies rénales (HDR) sont des anomalies du développement rénal caractérisées par une réduction du nombre de néphrons, la forme extrême étant l'agénésie rénale, et/ou des anomalies de différenciation de type dysplasie, la forme la plus grave étant la dysplasie multikystique. Elles constituent l'une des causes majeures d'insuffisance rénale chez l'enfant et justifient une interruption médicale de grossesse dans les formes les plus graves. Des mutations hétérozygotes d'une quinzaine de gènes impliqués dans le développement rénal ont été décrites, notamment dans des formes syndromiques d'HDR. Cependant, les mécanismes génétiques responsables des agénésies rénales bilatérales (ARB) sont actuellement très mal connus.

Afin d'identifier des gènes responsables d'ARB, nous avons analysé 10 familles par séquençage d'exome. Dans deux familles, nous avons identifié des mutations récessives du gène ITGA8 codant la chaîne  $\alpha 8$  d'intégrine : mutation homozygote (c.2982+2 T>C), résultant en la délétion en phase de 34 acides aminés (p.R961-A994del) dans un domaine structural de la protéine (domaine calf2) chez 3 foetus d'une famille consanguine de gitans d'origine serbe; mutations hétérozygotes composites chez deux foetus d'une famille non consanguine : délétion (c.1622-1626delAGGTG) entraînant l'apparition d'un codon stop (p.Glu541Alafs\*12) et mutation ponctuelle (c.1219 G>A) résultant en un faux-sens prédit comme délétère par Polyphen2 et Sift (p.G407R). Parmi ces mutations, seule la variation c.1219 G>A est présente dans la base de données EVS (Exome Variant Server) avec une fréquence très faible (1/13005). Nous avons montré que la mutation c.2982+2 T>C était un variant rare (0,04%) chez les gitans d'origine balkanique.

Le rôle crucial d'ITGA8 dans le développement rénal a été démontré chez la souris, l'inactivation du gène entraînant une agénésie rénale bilatérale. Localisés à la membrane plasmique, les hétérodimères d'intégrine  $\alpha 8 \beta 1$  régulent l'adhésion cellulaire et le remaniement du cytosquelette d'actine en réponse à une activation par un ligand, la néphronectine. Nous avons analysé l'effet de la mutation p.G407R sur la localisation subcellulaire de la protéine et l'adhésion sur néphronectine, dans des cellules HEK293 exprimant l'ADNc sauvage

ou muté d'ITGA8. Par des approches complémentaires (analyses en immunofluorescence, cytométrie de flux, technologie xCELLigence™) nous avons montré que la mutation empêchait la localisation membranaire de la protéine et affectait l'adhésion cellulaire.

Ces résultats démontrent donc pour la première fois que des mutations récessives d'ITGA8 sont responsables d'agénésie rénale bilatérale chez l'homme, identifiant ce gène comme nouveau gène d'HDR.

**Mots-clés :** développement rénal, intégrine, exome

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B030/#21

### GENOTYPAGE RHD FOETAL SUR PLASMA MATERNEL : 3 ANS D'EXPERIENCE

Emmanuelle GUINCHARD (1), Sandrine MONNIER (1), Chloé MARTHINET (1)

1. EFS, laboratoire IHE, Groupement Hospitalier Est, Lyon, France

**Auteur correspondant :** GUINCHARD Emmanuelle (emmanuelle.guinchard@efs.sante.fr)

**Sujet :** le génotypage RHD fœtal sur plasma maternel est effectué en routine depuis 3 ans au laboratoire.

**Matériel et méthode :** L'examen effectué dès 10 semaines de grossesse porte sur les exons 4, 5 et 10 amplifiés par PCR en temps réel suivant la méthode développée par J.M.Minon (CH de la Citadelle, Liège, Belgique)

Les critères de validation technique et biologique ont été définis préalablement durant la validation de méthode.

Le rendu des résultats est bien standardisé avec des commentaires biologiques bien définis.

Le compte-rendu est accompagné d'une fiche de suivi de grossesse, afin d'obtenir le phénotype RH1 à la naissance permettant de vérifier la concordance des résultats.

**Résultats :** depuis 2010, tous les résultats rendus ont été confirmés par le phénotype RH1 à la naissance. Les résultats ininterprétables (rendu indéterminés) correspondaient à des variants RHD le plus souvent d'origine maternelle ou dans quelques cas d'origine fœtale. Depuis 2011, le laboratoire participe à des campagnes de comparaisons interlaboratoires.

**Discussion, conclusion :** l'expérience sur 3 ans montre une fiabilité de la technique encadrée par des procédures et des critères de validation des résultats précis et rigoureux. Seules quelques modifications mineures ont été apportées à la technique. Les variants maternels du gène restent délicats à interpréter. Les prélèvements précoces exigent une analyse affinée des résultats même si la méthode montre toujours une bonne sensibilité. Le laboratoire est impliqué dans les réseaux de périnatalité de la région Rhône Alpes.

Le laboratoire a reçu l'accréditation des laboratoires selon la norme 15180 en 2013.

**Mots-clés :** plasma, RHD, accreditation

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B031/#75

### Description de 9 cas présentant un ARC syndrome (Arthrogryposis-Renal dysfunction - Cholestasis syndrome)

Jennifer FABRE TESTE (1), Laurence PERRIN SABOURIN (1), Emilie SERRANO (1), Odile FENNETEAU (2), Françoise MULLER (3), Alain VERLOES (1), Clarisse BAUMANN (1)

1. Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Hématologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Biochimie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

**Auteur correspondant :** Fabre Teste Jennifer (jennifer.fabre-teste@rdb.aphp.fr)

Le syndrome ARC est une maladie autosomique récessive comprenant une arthrogrypose, une acidose tubulaire rénale et une cholestase néonatale. Sont aussi décrits une ichtyose, des signes dysmorphiques mineurs, des anomalies du corps calleux, des infections récurrentes et des plaquettes grises dues à des anomalies de la biosynthèse des granules alpha. Ce syndrome touche les nouveau-nés qui généralement décèdent dans la première année de vie d'infections ou d'hémorragies liées à la dysfonction plaquettaire. Des mutations dans les gènes VPS33B et VIPAR ont été rapportées. Nous présentons les cas de 9 patients issus de 5 familles d'origine variée en se concentrant plus particulièrement sur les données de leur histoire anténatale. Une hyperéchogénicité intestinale transitoire et une hypomobilité étaient souvent retrouvées. Un patient avait une augmentation d'épaisseur de la nuque. Nous discuterons également les profils enzymatiques du liquide amniotique retrouvés chez ces patients.

**Mots-clefs :** ARC syndrome, arthrogrypose, plaquettes grises

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B032/#124

### Pièges lors du diagnostic moléculaire du syndrome de l'X fragile : trois laboratoires pour un DPN !

Cyrille Gavazzi (1), Virginie Roth (1), Lila Allou (1), Peggy Bouquet (1), Sandrine Pere (1), Pauline Feucher (2), Christelle Mangeonjean (2), Martine Doco-Fenzy (2), Pierre Boisseau (3), Philippe Jonveaux (1), Christophe Philippe (1)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Nancy Brabois, Vandœuvre-les-Nancy, France
2. Service de Génétique, EA3801, HMB - CHU Reims, Reims, France
3. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France

**Auteur correspondant :** ROTH VIRGINIE (v.roth@chu-nancy.fr)

Le syndrome de l'X fragile est une affection liée à l'X causée par une mutation par expansion de triplets CGG dans la région 5' transcrite non traduite du gène FMR1. Un allèle normal comporte moins de 44 CGG, un allèle avec une prémutation en comporte 55 à 200 tandis qu'un allèle avec une mutation complète en comporte plus de 200. Un diagnostic prénatal du syndrome de l'X fragile a été effectué chez une femme porteuse d'une prémutation de 94 CGG.

Il s'agissait d'un fœtus de sexe masculin. L'analyse par PCR et Southern-blot d'ADN extrait d'amniocytes montrait la présence d'une prémutation de 56 CGG. Les signaux correspondant à cette prémutation étaient cependant de faible intensité et un bruit de fond sur l'autoradiogramme ne permettait pas d'exclure une mutation complète en mosaïque. Nous avons alors sollicité la collaboration de deux laboratoires utilisant des protocoles différents. Le premier laboratoire a mis en évidence une mutation complète par une long-range PCR suivie d'un Southern-blot, sans identifier de prémutation avec cette technique. Le second, qui réalise des PCR et TP-PCR spécifiques de l'état de méthylation de l'ADN, a conclu que le fœtus était porteur d'une mosaïque somatique prémutation / mutation complète mais les résultats obtenus étaient inhabituels et suggéraient qu'une région à proximité de la répétition de triplets CGG était délétée. Nous avons montré par séquençage de l'ADN fœtal qu'une région de 70 pb immédiatement en 5' de la répétition de triplets CGG était effectivement délétée. Les 6 pb en 5' de la région délétée correspondent à 2 triplets CGG. Cette délétion sur l'allèle porteur de la prémutation explique l'ensemble des résultats obtenus avec les différentes approches et permet de comprendre que ces résultats puissent être discordants selon la technique utilisée.

Le résultat final a donc été celui d'une mosaïque somatique prémutation / mutation complète au locus FMR1. En accord avec les données de la littérature, nous suggérons que la prémutation maternelle a tout d'abord subi une transition vers une mutation complète durant la méiose et que ensuite, dans une cellule embryonnaire, une délétion de 70 pb immédiatement en 5' de la répétition de triplets et de la majorité des triplets CGG répétés a créé une seconde population cellulaire porteuse d'une prémutation au locus FMR1. Ce travail souligne entre autres l'importance de la collaboration entre laboratoires mettant en œuvre des techniques différentes pour affirmer un diagnostic moléculaire lorsque les résultats paraissent équivoques.

**Mots-clefs :** X fragile, mosaïque somatique, délétion



## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B033/#130

### Diagnostic prénatal d'une maladie rare : le lepréchaunisme

Houweyda Jilani (1), Syrine Hizem (1), Ons Azzabi (2), Imen Rejeb (1), Ines Ouertani (3), Leila Attia (4), Olivier Lascos (5), Martine Raynaud (6), Ahmed Meherzi (2), Ridha M'rad (3), Habiba Chaabouni (3), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La Marsa, Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie, Hôpital Mongi Slim, La Marsa, Tunis, Tunisie
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicole, Tunis, Tunisie
4. Service de Gynécologie, Hôpital Charles Nicole, Tunis, Tunisie
5. Service de biochimie B, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
6. Service de génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France

**Auteur correspondant :** Ben Jemaa Lamia (benjemaal@yahoo.com)

Le lepréchaunisme est une affection rare à transmission autosomique récessive entraînant une résistance à l'insuline, un syndrome dysmorphique et un retard statur pondéral. La biologie montre un hyperinsulinisme majeur avec des épisodes d'hypo- et d'hyperglycémie. La maladie est causée par des mutations du gène du récepteur de l'insuline INSR situé sur le bras court du chromosome 19. Le pronostic est réservé avec une espérance de vie qui dépasse rarement quelques mois malgré des essais de traitement avec l'IGF1 (Insulin-like growth factor) recombinant.

Dans cette observation, nous décrivons un patient porteur de cette affection rare dont le diagnostic a été suspecté sur un ensemble de signes cliniques et biologiques.

Le patient est un nouveau-né âgé de 6 jours, issu de parents apparentés. Le père est suivi pour intolérance au glucose. La mère est bien portante ayant dans ses antécédents 8 décès dans la fratrie (âge allant de quelques jours à 6 mois), un accouchement prématuré à 25 semaines d'aménorrhée (SA) d'un garçon à priori non malformé et décédé rapidement.

La grossesse a été compliquée de diabète gestationnel, de toxémie gravidique et de retard de croissance intra-utérin harmonieux. L'examen à la naissance trouve un nouveau-né de sexe masculin, hypotrophe (poids de naissance à terme égal à 1650 g), dysmorphique (globes oculaires saillants, base du nez large, oreilles bas implantées), hirsute et hypotonique. Au cours de son hospitalisation, il a eu une intolérance digestive d'où le recours à l'alimentation parentérale. L'enfant est décédé à l'âge de 5 mois dans un tableau de malnutrition.

Les examens complémentaires montrent un caryotype 46,XY, une alternance d'hypo- et d'hyperglycémie, et une anémie à 7 g d'hémoglobine par dl. L'étude du gène INSR a mis en évidence une mutation homozygote non-sens R924X déjà décrite dans la littérature. Cette mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez les parents.

Le diagnostic prénatal réalisé chez la mère à partir d'une biopsie des villosités chorales a montré un fœtus hétérozygote ce qui a permis de rassurer les parents.

Le lepréchaunisme est une maladie rare à pronostic réservé. La confirmation de la maladie par l'étude moléculaire permet de donner un conseil génétique afin d'éviter sa récurrence dans la même famille.

**Mots-clefs :** Lepréchaunisme, hyperinsulinisme, gène du récepteur de l'insuline INSR

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B034/#142

### Dépistage anténatal de l'hypophosphatasie à propos de cinq cas cliniques.

Daniel Amram (1), AGNES Gentel-Dehenne (2), Claudine Touboul (2), Armand Vergnaud (2), Jean-Marc Levailant (2), Martine Sinico (3), Marion Gérard (4), Geneviève Beaujat (5), Martine Le Merrer (5), Bassam Haddad (2), Etienne Mornet (6)

1. service de Génétique, CHIC de Créteil, CRETEIL, France
2. Service de gynécologie obstétrique, CHIC de Créteil, CRETEIL, France
3. Service d'anatomopathologie, CHIC de Créteil, CRETEIL, France
4. service de Génétique, CHU de Caen, Caen, France
5. service de Génétique, hôpital Necker-Enfant, paris, France
6. Laboratoire de génétique constitutionnelle prénatale et postnatale, service de biologie, centre hospitalier de Versailles, Versailles, France

**Auteur correspondant :** AMRAM DANIEL (daniel.amram@chicreteil.fr)

L'hypophosphatasie est un défaut de minéralisation osseuse et dentaire dû au déficit ou à l'absence de l'activité de la phosphatase alcaline non tissu-spécifique (TNAP) codée par le gène ALPL. En fonction de l'âge au diagnostic et de la sévérité des symptômes, six formes cliniques sont décrites. La forme périnatale létale est responsable d'un déficit sévère de la minéralisation osseuse avec absence d'ossification de la boîte crânienne et d'une partie ou de la totalité du reste du squelette. Dans la forme périnatale bénigne les symptômes régressent au troisième trimestre de la grossesse. La forme infantile ou du nourrisson entraîne un rachitisme, des craniosynostoses, des infections respiratoires, un retard de croissance et une hypotonie. La forme juvénile associe des anomalies rachitiques et dentaires et des troubles de la marche. La forme adulte présente des fractures récurrentes, une chute prématurée des dents, une chondrocalcinose une ostéoarthropathie. Enfin l'odontohypophosphatasie est limitée à une atteinte dentaire. Le diagnostic repose sur la diminution de l'activité de la TNAP, et sur le séquençage du gène ALPL. Plus de 275 mutations ont été dénombrées. Le mode de transmission est autosomique récessif pour les formes les plus sévères mais peut être dominant ou récessif dans les formes modérées. Nous rapportons 5 cas d'hypophosphatasie diagnostiqués en anténatal dont 2 cas dus à des mutations n'ayant jamais été décrites. Il faut évoquer une hypophosphatasie devant les signes échographiques suivants : des os long très inférieurs au troisième percentile, incurvés, parfois associés à la présence de spicules osseux. Le mode 3D osseux retrouve des signes d'hypominéralisation osseuse, des côtes courtes et grêles. Le scanner hélicoïdal, à réaliser à partir de 26SA, confirme le défaut d'ossification squelettique, l'absence d'ossification de la boîte crânienne, des côtes grêles retrouvées dans les cas d'hypophosphatasie létale et la micromélie. Le taux de phosphatases alcalines sériques chez les parents est anormalement bas ou dans les limites normales basses. Le diagnostic génétique peut être proposé soit par amniocentèse soit au décours de l'IMG si tel est le souhait du couple. En cas d'IMG pour une pathologie osseuse, l'examen foeto-pahtologique suivi de l'étude génétique permet de prendre en charge le couple lors d'une grossesse ultérieure. Le conseil génétique est problématique compte tenu de la variabilité du mode de transmission et de l'existence d'une forme prénatale bénigne parfois difficile à distinguer de la forme prénatale létale. La génétique moléculaire peut parfois aider à distinguer ces deux formes. Il est plus aisé de conseiller un couple ayant des antécédents d'hypophosphatasie pour lequel les mutations sont connues, car on peut alors proposer un diagnostic prénatal sur villosités chorales ou un diagnostic pré-implantatoire. L'étude de la corrélation phénotype/génotype permet d'informer plus précisément les familles.

**Mots-clefs :** Hypophosphatasie, diagnostic prénatal, nouvelles mutations

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B035/#269

### Délétion du gène ARSE et caryotype 45,X chez un fœtus de sexe masculin

Valérie KREMER (1), Mélanie HILD (2), Façoise GIRARD (2), Romain FAVRE (3), Maria Cristina ANTAL (4), Rosalie ABIDA (5), Dominique CHRISTMANN (6), Laurent GUIBAUB (7), Valérie CORMIER-DAIRE (8), Martine LE MERRER (8), Geneviève BAUJAT (8), Elisabeth FLORI ( )

1. Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service de Gynécologie Obstétrique, CMCO-SIHCUS, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital de Hautepierre, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital de Hautepierre, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Service de Radiologie, Hôpital de Hautepierre, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Service d'Imagerie, Hospices Civils de Lyon, Hôpitaux de Lyon, Lyon, France
8. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker – Enfants malades, Hôpitaux de Paris, Paris, France

**Auteur correspondant :** KREMER Valérie (valerie.kremer@chru-strasbourg.fr)

Nous rapportons l'observation d'une jeune femme primigeste primipare chez laquelle une amniocentèse est réalisée à 30 SA en raison de la mise en évidence à l'échographie d'une dilatation ventriculaire modérée (non confirmée à l'IRM à 33 SA) et d'une croissance à la limite inférieure de la normale. La formule chromosomique du fœtus est 45,X alors que les organes génitaux externes sont masculins non ambigus à l'échographie.

Des hybridations in situ avec des sondes de l'X et de l'Y mettent en évidence une translocation du gène SRY sur le bras court de l'X. Un bornage par SNP array (Affymetrix® CytoScan HD Array, résolution 100kb) détecte une délétion terminale de 2,8 Mb du bras court de l'X incluant les gènes SHOX (une copie) et ARSE (0 copie) ainsi qu'une délétion de 54 Mb du chromosome Y dont seule la partie terminale du bras court incluant le gène SRY est présent.

Si l'existence d'une seule copie du gène SHOX permet d'expliquer le retard de croissance du fœtus, les conséquences de l'absence du gène ARSE, qui est responsable de la chondrodysplasie ponctuée de type 1 (CDPX1), sont beaucoup plus difficiles à prévoir du fait de l'absence possible de calcifications osseuses et de la variabilité phénotypique de l'affection. En effet, si la symptomatologie de la CDPX1 est habituellement modérée, associant une hypoplasie nasale, une brachytéléphalangie et des signes osseux qui s'améliorent avec l'âge, elle peut être sévère et comporter des anomalies de la charnière cervicale (instabilité et sténoses), des difficultés respiratoires, une surdité et une déficience intellectuelle.

Compte tenu de ces incertitudes concernant le pronostic de l'enfant à naître, une IMG a été réalisée à la demande du couple. Les radiographies effectuées après l'IMG n'ont pas montré de calcifications chez le fœtus.

Cette observation souligne l'intérêt de l'analyse chromosomique sur puce à ADN qui a permis de mettre en évidence un remaniement chromosomique beaucoup plus complexe qu'une simple translocation du gène SRY sur le bras court du chromosome X en montrant non seulement une délétion du gène SHOX mais également l'absence du gène ARSE responsable de CDPX1.

Elle souligne également les difficultés majeures du conseil génétique en anténatal lorsqu'une délétion du gène ARSE est mise en évidence du fait de la variabilité phénotypique de la CDPX1 dont la symptomatologie, qui est habituellement modérée, mais peut être également sévère même en l'absence de calcifications osseuses chez le fœtus.

**Mots-clés :** translocation X;Y et délétion du gène ARSE, analyse chromosomique sur puce à ADN, diagnostic prénatal

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B036/#294

### Discordances foetoplacentaires, dans une série de 30 cas, un cas de trisomie 15 libre et homogène à l'examen direct des villosités choriales, associée à une trisomie 18 libre et homogène dans la culture des villosités et chez le fœtus

Josette Lucas (1), Sylvie Jaillard (1), (2), Corinne Cudeville (3), Pascale Marcorelles (4), Hubert Journal (5), Catherine Henry (1), Vincent Jauffret (1), Sylvie Odent (6), (7), Laurent Pasquier (6), Chloé Quélin (6), Marc Antoine Belaud Rotureau (1)

1. laboratoire de cytogénétique et biologie cellulaire, CHU pontchaillou, Rennes, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier Bretagne Atlantique, Vannes, France
3. Service de foetopathologie, CHU, Brest, France
4. Service de Génétique, Centre Hospitalier Bretagne Atlantique, Vannes, France
5. Service de Génétique, CHU, Rennes, France
6. Centre de référence "Maladies rares" CLAD-Ouest, France
7. Centre de référence "Maladies rares" CLAD-Ouest, France

**Auteur correspondant :** Lucas Josette (josette.lucas@chu-rennes.fr)

Nous rapportons un cas inhabituel de discordance foeto-placentaire (DFP) dans lequel le cytotrophoblaste (examen direct des villosités choriales) est porteur d'une trisomie 15 libre et homogène alors que l'axe mésenchymateux (culture des villosités choriales), le liquide amniotique et le cordon ombilical révèlent une trisomie 18 libre et homogène.

L'analyse cytogénétique a été réalisée à 13 SA et 3 jours chez une patiente de 40 ans, devant une clarté nucale de 6,5 mm et un fœtus hypotrophe. Une IMG est réalisée à 15 SA.

L'examen foeto-pathologique met en évidence un fœtus dont les mensurations sont inférieures au troisième percentile et présentant une dysmorphie faciale, des doigts chevauchés et une artère ombilicale unique. Le placenta comporte de très grandes villosités évocatrices d'anomalies chromosomiques.

L'hypothèse la plus vraisemblable expliquant la survenue de cette DFP est la formation d'un zygote porteur d'une trisomie 18 libre. Lors des premières divisions post-zygotiques, dans une cellule de la lignée trophoblastique, 2 non-disjonctions des chromatides-sœurs se produisent: l'une aboutit à la correction de la trisomie 18 et l'autre à la formation de la trisomie 15 libre. Cette cellule est à l'origine du cytotrophoblaste (CT).

Cette nouvelle DFP est comparée aux 29 autres cas de notre série établie à partir de 951 caryotypes sur villosités choriales, réalisés en raison de la découverte précoce de signes d'appel échographiques ou pour un risque combiné des marqueurs sériques du 1er trimestre supérieur ou égal à 1/250. Les DFP représentent 3 pour 100 des caryotypes étudiés.

Parmi les 30 cas, 15 sont des mosaïques confinées au placenta (MCP), dont 5 MCP de type I (la formule chromosomique du CT est anormale, celles de la culture et du fœtus sont normales), 5 de type II ( le caryotype des cellules en culture est anormal, le CT et le fœtus ont un caryotype normal ) et 5 de type III (le CT et l'axe des villosités ont un caryotype anormal, celui du fœtus est corrigé). Dans les 15 autres cas de DFP, le caryotype du fœtus est anormal. On note que dans 5 de ces derniers, le caryotype du CT est normal ou équilibré.

Au total, dans notre série, la formule chromosomique du CT est discordante de celle du fœtus dans 15 cas sur 30, c'est-à-dire dans 1,5 pour 100 des fœtus étudiés. Ce chiffre faible mais non négligeable, est à prendre en compte au cours des analyses génétiques et cytogénétiques de l'ADN « fœtal » sur sang maternel qui provient non pas du fœtus mais du CT.

Le caryotype sur examen direct des villosités reste cependant dans la grande majorité des cas conforme à celui du fœtus et permet d'obtenir un premier diagnostic en 24 heures, notamment dans certains cas

d'hygroma ou d'hyperclarté nucale, très souvent associés à une anomalie chromosomique.

**Mots-clefs :** fetoplacental discrepancy, confined placental mosaicism, false positive, false negative, non invasive prenatal testing, maternal plasma, cell-free DNA testing

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B037/#302

### Mise en évidence d'un mosaïcisme germlinal à l'occasion de la mise au point d'un diagnostic pré-implantatoire

Anne Girardet (1), Isabelle Coupier (2), Sandrine Giscard d'Estaing (3), Marie-Pierre Cordier (4), Tal Anahory (5), Mireille Claustres (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, INSERM U827, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. Service d'Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. CECOS, Service de Médecine de la Reproduction, Hôpital Mère-Enfant, Bron, France
4. Service de Génétique Clinique, Hôpital Mère-Enfant, Bron, France
5. Pôle naissance et pathologie de la femme, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** Girardet Anne (anne.girardet@inserm.fr)

Une demande de DPI nous a été adressée pour un couple chez lequel l'homme présentait un rétinoblastome bilatéral diagnostiqué à l'âge de 3 mois. La mutation causale, une délétion de 18 nucléotides dans l'exon 12 du gène RB1 avait été préalablement caractérisée ; Il s'agissait d'une néo-mutation, aucun de ses parents n'étant porteur de cette altération.

Au moment de la prise en charge de ce couple, le DPI du rétinoblastome associait l'étude directe de la mutation causale à une analyse indirecte par étude de 6 marqueurs microsatellites (2 marqueurs intragéniques, et 4 marqueurs extragéniques de part et d'autre du gène RB1). Le couple n'ayant pas eu d'enfant ni débuté de grossesse, une analyse par sperm-typing a dû être réalisée afin d'identifier les haplotypes liés aux gènes normal et muté en vue de réaliser le diagnostic génétique indirect. Le patient ayant dû subir une chimiothérapie pour un léiomyosarcome peu avant la demande de DPI, cette analyse a été réalisée sur une paillette de sperme congelée avant le traitement. De façon inattendue, l'analyse d'environ 70 spermatozoïdes isolés a mis en évidence trois populations distinctes de spermatozoïdes : i) des spermatozoïdes porteurs d'un haplotype A et du gène « normal », ii) des spermatozoïdes porteurs d'un haplotype B et de la mutation, et iii) des spermatozoïdes porteurs de l'haplotype B mais du gène « normal », mettant ainsi en évidence la présence d'un mosaïcisme germlinal chez ce patient. L'analyse de sperm typing a révélé que moins de 10% des spermatozoïdes étaient porteurs de la mutation, réduisant le risque pour ce couple d'avoir un enfant atteint de rétinoblastome.

Cependant, nous avons malgré tout choisi de ne transférer que 50% des embryons lors du DPI (ceux présentant l'haplotype A, non porteurs de la délétion), car même en présence de l'haplotype B sans visualisation de la mutation, nous ne pouvions pas exclure un Allèle Drop Out masquant la présence de la mutation.

Deux cycles de DPI ont été réalisés chez ce couple et une grossesse, actuellement en cours, a été obtenue lors de la deuxième tentative.

**Mots-clefs :** mosaïcisme germlinal, spermatozoïdes, DPI

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B038/#311

### Ascite sans anasarque : un signe évocateur de Niemann-Pick C en anténatal

Estelle Colin (1), Dominique Bonneau (1), Magalie Barth (1), Françoise Bousson (2), Philippe Latour (3), Guenaëlle Piguët-Lacroix (3), Agnès Guichet (1), Alban Ziegler (1), Stéphane Triau (4), Didier Loisel (5), Loïc Sentilhes (6)

1. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Service de Gynécologie et Obsyétrique, CHU Angers, Angers, France
3. Laboratoire de Biochimie, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service d'Anatomopathologie, CHU Angers, Angers, France
5. Service de Radiologie, CHU Angers, Angers, France
6. Service de Gynécologie et Obstétrique, CHU Angers, Angers, France

**Auteur correspondant :** Colin Estelle (escolin@chu-angers.fr)

La maladie de Niemann-Pick C (NPC) est une maladie lysosomale caractérisée par une anomalie de trafic intra-cellulaire du cholestérol. Elle est de transmission autosomique récessive et due à des mutations dans les gènes NPC1 et NPC2. Les cas prénatals de maladie NPC ont été décrits dans un nombre limité d'observations et seulement dans 2 cas en l'absence d'antécédent familiaux indiquant que le diagnostic est particulièrement difficile dans une telle situation. Nous rapportons le cas d'un diagnostic prénatal de maladie NPC, chez un couple sans histoire familiale, confirmé par analyse biochimique et génétique et soulignons l'importance de rechercher cette pathologie devant l'association anténatale d'une splénomégalie et d'une ascite sans anasarque.

**Mots-clefs :** Niemann Pick C, Ascite, Splénomégalie

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B039/#333

### La xérocytose héréditaire une cause méconnue d'anasarque fœtale. Description de deux familles et identification d'une mutation récurrente dans le gène PIEZO1.

C Beneteau (1), G Thierry (2), S Blesson (3), C Le Vaillant (4), V Picard (5), MC Béné (6), M Eveillard (6), C Le Caignec (7)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
4. Service d'Obstétrique et de Médecine Fœtale, CHU de Nantes, Nantes, France
5. AP-HP et Université Paris Sud, Laboratoire d'Hématologie, CHU Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
6. Service d'Hématologie Biologique, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Service de Génétique Médicale et Inserm UMR\_S1087, CHU de Nantes, Nantes, France

**Auteur correspondant :** Beneteau Claire (claire.beneteau@chu-nantes.fr)

La xérocytose héréditaire (HX) ou stomatocytose héréditaire à cellules déshydratées est une maladie génétique congénitale rare et peu connue du globe rouge qui se transmet selon un mode autosomique dominant. Cette anémie macrocytaire compensée se manifeste le plus souvent par un ictère modéré, une hépato-splénomégalie, et des lithiases biliaires. Dans certaines familles des hydramnios, ascites et anasarques fœtales ont été observées en rapport avec cette maladie. Ces œdèmes s'amendent en période périnatale et ne récidivent pas ultérieurement. Mais du fait de leur abondance, ils peuvent parfois mettre en jeu le pronostic vital fœtal. Récemment des mutations dans le gène PIEZO1 ont été identifiées dans la HX. Nous rapportons deux familles de HX avec des antécédents familiaux d'anasarques fœtales dans lesquelles nous avons identifié une mutation récurrente dans le gène PIEZO1.

Une patiente de la première famille, nous a été adressée durant sa cinquième grossesse en raison de la récurrence d'une anasarque fœtale non immune. Une HX a été évoquée chez cette patiente et a été confirmée par ektacytométrie. Après de nombreuses ponctions évacuatrices et la pose de 3 drains in-utéro, l'enfant est né prématurément à 32 SA. A l'âge de 2 ans, ce petit garçon qui a hérité de la HX de sa mère est en bonne santé. Il présente une hépato-splénomégalie et une hypoplasie des muscles grands droits de l'abdomen. Des antécédents d'œdèmes prénataux ont été notés chez quatre autres membres de la famille. Dans la deuxième famille, le diagnostic de HX a été évoqué sur les analyses biologiques du post-partum qui ont retrouvé une hyperferritinémie et une macrocytose. La patiente avait eu deux grossesses marquées par des anasarques fœtales non immunes.

Sur les frottis sanguins quelques stomatocytes et des globules rouges en cibles ont été retrouvés. Le diagnostic de HX a été confirmé chez tous les patients par ektacytométrie. Le séquençage direct du gène PIEZO1 a permis d'identifier la même mutation causale (c.7367G>A; p.Arg2456His) dans l'exon 51 dans les deux familles.

Ces résultats viennent renforcer le rôle du méchanotenseur PIEZO1 dans les anasarques fœtales liées à l'HX. Trois autres familles de HX avec des antécédents d'anasarques fœtales ont été rapportées récemment avec des mutations identifiées dans PIEZO1. Il existe une variabilité intra et interfamiliale dans le phénotype et la sévérité de ces œdèmes. Le mécanisme de leur apparition n'est pas encore élucidé.

L'HX est une pathologie méconnue et sous-diagnostiquée car souvent peu symptomatique et fruste sur les examens biologiques hématologiques de routine. L'incidence de l'HX dans les anasarques fœtales n'est pas connue. Néanmoins, il est important d'évoquer ce diagnostic devant des œdèmes fœtaux pour guider la prise en charge. L'étude du gène PIEZO1 en prénatal pourra être utile pour confirmer le diagnostic de HX et guider la prise en charge obstétricale.

**Mots-clés :** xérocytose héréditaire, stomatocytose héréditaire à cellules déshydratées, PIEZO1

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B040/#340

### Analyse du devenir de 25 cas d'ostéogénèse imparfaite diagnostiquées en anténatal

Geneviève Baujat (1), Karen Lambot (2), Anne-Sophie Lebre (1), Bettina Bessières (1), Joana Bengoa (1), Tania Attié-Bitach (1), Jean-Pierre Bernard (3), Anne-Elodie Millischer (4), Laurent Salomon (3), Pascale Sonigo (4), Arnold Munnich (5), Martine Le Merrer (5), Valérie Cormier-Daire (5)

1. Département de Génétique et centre de référence maladies osseuses constitutionnelles, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Département de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Paris, France
3. Département de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Paris, France
4. Département de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Paris, France
5. Département de Génétique et centre de référence maladies osseuses constitutionnelles, Hôpital Necker-Enfants malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Paris, France

**Auteur correspondant :** Baujat Geneviève (genevieve.baujat@nck.aphp.fr)

L'ostéogénèse imparfaite (OI) est une affection génétique rare, caractérisée par une fragilité osseuse et une ostéopénie. Elle associe des signes squelettiques de sévérité variable (essentiellement des fractures, des douleurs, une hyperlaxité ligamentaire, une dentinogénèse imparfaite et des déformations osseuses), et des signes extra squelettiques inconstants (des sclérotiques bleues, une surdité et une fragilité vasculaire). Il existe une grande variabilité d'expression, allant de formes modérées pouvant passer inaperçues, à des formes majeures létales en périnatal. La majorité des cas est transmise selon un mode autosomique dominant, et est associée à une mutation des gènes COL1A1 ou COL1A2. Les corrélations génotype-phénotype demeurent imprécises à ce jour.

Pendant la grossesse, le diagnostic est suspecté devant différents signes d'appel, essentiellement une incurvation des os longs, des fractures et une insuffisance de minéralisation de la voûte du crâne. Si les formes sévères sont en général reconnues précocement, les formes de sévérité modérée et moyenne posent de réelles difficultés, d'une part de reconnaissance, et d'autre part dans l'évaluation du pronostic postnatal.

**Objectifs :** Evaluation de la contribution respective de l'imagerie prénatale, de l'histoire familiale et de l'analyse moléculaire dans le pronostic postnatal de l'ostéogénèse imparfaite.

**Patients et méthodes :** analyse rétrospective de l'imagerie prénatale (échographie et scanner osseux 3D), des antécédents familiaux, et du devenir après la grossesse (phénotype et génotype) d'une série de 25 cas dont le diagnostic d'ostéogénèse imparfaite a été posé en anténatal.

**Résultats :** La sévérité de la présentation fœtale a conduit à une interruption de grossesse pour 10 fœtus. Les 15 autres cas sont actuellement vivants et suivis ; parmi eux, 4 ont une OI de forme sévère, 6 ont une forme moyenne et 5 ont une forme modérée.

La sensibilité du scanner osseux 3D est soulignée, mais cet examen ne peut être effectué qu'après 28 SA. L'étude moléculaire, disponible pendant la grossesse que pour deux cas, n'a pas apporté d'aide pour déterminer le pronostic postnatal. L'histoire familiale apparaît comme le meilleur facteur pronostic de sévérité postnatale. De façon intéressante, 3 patients ayant une incurvation marquée des os longs pendant la grossesse ont présenté une nette diminution/amélioration de leur déformation en postnatal.

**Conclusion :** Le diagnostic d'OI est aujourd'hui plus facilement posé pendant la grossesse, notamment grâce à l'amélioration de la sensibilité des outils d'imagerie prénatale. Ceci peut néanmoins poser des difficultés pour les médecins et les couples concernés, notamment



pour préciser le pronostic postnatal. L'histoire familiale apparaît finalement comme un des meilleurs éléments pronostics.

**Mots-clefs** : osteogenèse imparfaite, diagnostic prénatal, pronostic

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

**B041/#341**

### Bilateral adrenal calcifications, micropenis, increased nuchal translucency and congenital proteinuria: prenatal presentation of a new autosomal recessive syndrome.

Nira Schreyer-Shafir (1), Sukenik-Halevy Rivka (2), Tepper Roni (3), Alon Eliakim (4), Avishalom Pommeranz (4), Mark David Ludman (1), Annick Raas-Rothschild (1)

1. Institute of Medical Genetics, Meir Medical Center, Kfar Saba, Israel
2. Institute of Medical Genetics & Department of Obstetrics and gynecology, Meir Medical Center, Kfar Saba, Israel
3. Ultrasound Unit, Dept of Obstetrics & Gynecology, Meir Medical Center, Kfar Saba, Israel
4. department of Pediatrics, Meir Medical Center, Kfar Saba, Israel

**Auteur correspondant** : Raas-rothschild annick (araro2013@gmail.com)

Here we report, the prenatal presentation of two pregnancies of two consanguineous related couples. The two fetuses presented with bilateral adrenal calcifications, increased nuchal translucency, micropenis while the two children had postnatal proteinuria. Both mothers presented to the genetic clinic during their pregnancy due to prenatal screening tests indicating increased risk for Down and a borderline low uE3 serum level. Chromosomal abnormality was ruled out by fetal karyotype (patient 1&2) and chromosomal array (patient 2) analysis; The ultrasonographic finding of bilateral adrenal calcifications and the consanguinity suggested Wolman disease which was ruled out by molecular analysis. Sequencing of the WT1 gene permitted the exclusion of Denys Drash syndrome, type 4 nephrotic syndrome (NPHS4) and Fraser syndrome. Although both patients had postnatal nephrotic range proteinuria which was suggestive of congenital nephrotic syndrome, maternal serum levels of alpha-fetoprotein as well as amniotic fluid levels were not elevated. Bilateral adrenal calcifications, micropenis, increased fetal nuchal translucency, and the congenital proteinuria presented by these 2 children, together with the 4 patients previously reported, suggest a new clinical entity of autosomal recessive inheritance. In this family, the family history and consanguinity permitted to predict the disease of the second fetus; This syndrome should be added to the short list of potential etiologies of prenatal adrenal calcifications and to the long list of syndromes associated with increased fetal nuchal translucency. Further molecular studies are needed to identify the genetic basis of this new entity.

**Mots-clefs** : adrenal calcifications, proteinuria, micropenis

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

**B042/#346**

### Intérêt du séquençage d'exome pour le diagnostic prénatal des maladies mitochondriales.

Samira Ait-El-Mkadem (1), Annabelle Chaussonot (1), Cécile Rouzier (1), Konstantina Fragaki (1), Sylvie Bannwarth (1), Véronique Paquis-Flucklinger (1)  
1. Service de Génétique Médicale, Centre de référence des maladies mitochondriales - IRCAN UMR7284 / INSERM U1081 / UNS, CHU de Nice, Nice, France

**Auteur correspondant** : Ait-El-Mkadem Samira (samirasaadi03@yahoo.fr)

Les maladies mitochondriales constituent le groupe le plus fréquent des maladies métaboliques. Elles sont caractérisées par un déficit de la chaîne respiratoire (CR) mitochondriale et leur pronostic est souvent péjoratif, en particulier dans les formes de début précoce. Le diagnostic génétique est complexe du fait de la grande hétérogénéité clinique, de la nature primaire ou secondaire du déficit de la CR, du grand nombre de gènes impliqués et du double contrôle par l'ADN mitochondrial et le génome nucléaire. Dans ce contexte, nous avons eu recours au séquençage de l'exome chez trois familles consanguines, demandeuses d'un diagnostic prénatal (DPN), pour lesquelles l'analyse de l'ADN mitochondrial et des gènes nucléaires candidats s'est avérée négative. Les 3 familles ont chacune 2 enfants atteints présentant dès la première année de vie des symptômes cliniques sévères associés à un déficit de la CR, évoquant une maladie mitochondriale. Le séquençage d'exome a été réalisé chez 1 ou 2 patients atteints et a permis d'identifier pour chacune des familles le gène responsable avec une mutation homozygote dans SERAC1, COQ2 ou SIAT9 codant pour la GM3 synthase (GM3S). Pour la dernière famille, nous avons montré que le déficit en GM3S est responsable d'un dysfonctionnement secondaire de la CR, avec une diminution du potentiel de membrane mitochondrial et une augmentation de l'apoptose dans les fibroblastes des patients. Cette identification des mutations responsables a été importante pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal que nous avons pu réaliser chez ces trois familles (le statut du fœtus était non affecté à chaque DPN). Quelques points importants ressortent de notre expérience : (i) l'efficacité de l'approche du séquençage d'exome même sur un seul patient, (ii) la rapidité de l'obtention des résultats définitifs (en moins de 4 mois à partir du moment où l'utilisation de cette approche a été décidée), (iii) le délai court entre la date du rendu des résultats aux familles et la réalisation du diagnostic prénatal (en moins de 5 mois). Enfin, au plan analyse bioinformatique, notre étude attire l'attention sur l'importance de l'analyse des variants avec une faible profondeur ou douteux pouvant représenter des insertions/délétions.

**Mots-clefs** : Séquençage d'exome, Maladies mitochondriales, Diagnostic et DPN

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

**B043/#353**

### Bilan de la mise en place du dépistage combiné de la trisomie 21 du premier trimestre de la grossesse : la promesse d'une prise en charge avant 14 semaines d'aménorrhée elle-t-elle tenue ?

Julien Van-Gils, Jérôme Toutain, Didier Lacombe, Jacques Horovitz, Robert Saura  
Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Van-Gils Julien (julien.vangils@gmail.com)

**Introduction :** Le dépistage combiné de la trisomie 21 du premier de la grossesse a été généralisé en France en 2010 sous l'impulsion de la Haute Autorité de Santé. Hormis une meilleure valeur prédictive positive comparativement au dépistage du deuxième trimestre, ce test permet, s'il est effectué précocement, la réalisation d'une choriocentèse avant 14 semaines d'aménorrhée (SA), le cas échéant. Si un diagnostic d'aneuploïdie est posé dans les délais, une interruption de la grossesse peut alors être effectuée par aspiration, ce qui est moins pénible pour les patientes qu'une interruption médicamenteuse plus tardive. Dans notre centre, nous avons souhaité évaluer le délai de prise en charge diagnostic des patientes présentant un test combiné du premier trimestre pathologique (TCT1P).

**Méthodes :** Entre juillet 2011 et août 2013, une étude rétrospective a été effectuée chez des patientes d'Aquitaine présentant un TCP1P. Les termes de l'échographie de datation du premier trimestre, des résultats des marqueurs sériques du premier trimestre et de la réalisation de la choriocentèse ont été colligés. A partir du prélèvement chorial, une recherche rapide des principales aneuploïdies (trisomies 13, 18, 21 et dysgonosomies) a été effectuée par une technique d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) au niveau des cellules composant l'axe mésenchymateux des villosités. Une culture des villosités chorales a systématiquement été réalisée afin d'établir le caryotype conventionnel.

**Résultats :** 449 dossiers de patientes présentant un TCP1P ont été examinés. Le terme médian de l'échographie de datation du premier trimestre était de 12 SA + 5 jours, celui des résultats des marqueurs sériques du premier trimestre de 13 SA + 2 jours, et celui de la réalisation de la choriocentèse de 14 SA + 3 jours. 30,7% des choriocentèses (138/449) ont été réalisées avant 14 SA. Sur la période de l'étude, ce pourcentage s'est révélé constant. Les principales aneuploïdies, recherchées par FISH, ont été observées pour 6,01% des choriocentèses (27/449), dont 3,78% de trisomies 21 (17/449).

**Conclusion :** Il est établi que les TCP1P sont associés à plus de 5% d'aneuploïdies. Or, malgré ce risque élevé d'anomalie chromosomique, seules environ 31% des patientes de notre étude ont pu bénéficier d'une prise en charge diagnostique optimale, avant 14 SA. Sur la base du résultat de l'examen rapide des principales aneuploïdies par FISH, une interruption de la grossesse précoce a pu être réalisée à la demande du couple, sans attendre le résultat du caryotype conventionnel. Notre étude montre ainsi qu'il est nécessaire de mener une réflexion pluridisciplinaire afin de raccourcir les délais des résultats des différents examens cliniques et biologiques. Dans un avenir proche, il serait regrettable que le dépistage non invasif de la trisomie 21 soit confronté à la même problématique, et conduise à réaliser des interruptions médicales de la grossesse au milieu du deuxième trimestre.

**Mots-clés :** Dépistage combiné de la trisomie 21 du premier trimestre, Biopsie de villosités chorales, Interruption médicale de grossesse par aspiration

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

**B044/#364**

### Ouverture d'un 4ème centre de diagnostic préimplantatoire (DPI) au CHU de Nantes

Cédric Le Caignec (1), Sébastien Schmitt (1), Thomas Fréour (2), Jenna Lammers (2), Kamran Moradkhani (1), Claire Bénéteau (1), Gaëlle Thierry (1), Sophie Pedronno (1), Anne-Laure Bauduin (1), Aurélien Gautel (1), Coralie Gonin (1), Marie-Line Bichon (1), Albert David (1), Amélie Rocher-Monnier (1), Paul Barrière (2)

1. Service de génétique médicale, CHU, Nantes, France  
2. Biologie et médecine de la reproduction, CHU, Nantes, France

**Auteur correspondant :** Le Caignec Cédric (lecaignec@hotmail.com)

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) consiste à rechercher sur des embryons conçus in vitro avec les spermatozoïdes et les ovules des deux parents, une maladie génétique grave et incurable qui peut être transmise par les parents. Il vise à replacer, dans l'utérus de la mère, un embryon indemne de la maladie. Le DPI est une donc alternative au diagnostic anténatal et s'adresse à des couples à risques génétiques, soit que l'un des membres du couple ou les deux, ait une anomalie génétique connue dans la famille, soit qu'un ou plusieurs enfants ait révélé l'existence d'une transmission génétique d'une maladie. Malgré la difficulté d'obtenir une grossesse par cette méthode, un certain nombre de couples a recours à cette nouvelle technique afin d'éviter le traumatisme physique ou psychique que représente une interruption médicale de grossesse.

La technique se déroule en deux temps : le prélèvement d'une ou deux cellules embryonnaires, appelées à ce stade blastomère suivi de l'analyse génétique de la/des cellule(s). Une ou deux cellules embryonnaires sont prélevées sur des embryons de trois jours au stade de six à huit cellules. Pour prélever ces cellules, un trou est pratiqué dans la zone pellucide qui entoure et maintient les cellules ensemble à l'aide d'un laser. Une ou deux cellules sont ensuite prélevées par aspiration grâce à une micropipette. Chaque cellule est ensuite analysée afin de rechercher une anomalie génétique ou chromosomique. Le diagnostic se fait grâce à des techniques de génétique moléculaire dont la PCR ou des méthodes de cytogénétique moléculaire essentiellement l'hybridation in situ en fluorescence. Seuls les embryons sains seront réimplantés dans l'utérus de la mère. Les embryons atteints sont détruits.

Un nouveau centre de DPI a ouvert en 2013 au CHU de Nantes. C'est le quatrième centre à être agréé en France après Necker-Clamart, Montpellier et Strasbourg. Le centre du CHU de Nantes prend en charge les couples pour indication chromosomique et moléculaire. Au plan cytogénétique, les translocations Robertsoniennes et réciproques représentent la majorité de ce groupe d'indications et sont prises en charge à Nantes. Au plan moléculaire, après avoir débuté avec trois indications majeures (mucoviscidose, myotonie de Steinert et amyotrophie spinale infantile), nous avons élargi notre recrutement à toutes pathologies, sous réserve d'un avis favorable du centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal et de la faisabilité technique.

**Mots-clés :** DPI, Préimplantatoire, diagnostic préimplantatoire

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B045/#375

### Trisomie 8 en mosaïque : Difficultés du conseil génétique prénatal

Maud Blanluet (1), Clarisse Baumann (1), Jean-François Oury (2), Emilie Serrano (1), Céline Dupont (1), Camille Leroy (1), Martine Montagnon (1), Brigitte Benzacken (1), Catherine Yardin (3), Anne-Claude Tabet (1)

1. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Service d'Histologie, Cytologie et Cytogénétique, CHU Dupuytren, Limoges, France

**Auteur correspondant :** Tabet Anne-Claude (anne-claude.tabet@rdb.aphp.fr)

#### Introduction :

La trisomie 8 en mosaïque est une anomalie chromosomique rare associant de façon variable un retard mental, une dysmorphie, des anomalies osseuses, cardiovasculaires et rénales. Le taux de mosaïcisme sanguin n'est pas prédictif de la gravité de l'expression clinique, ce qui complique le conseil génétique prénatal. Nous rapportons deux cas de diagnostic prénatal complexe de trisomie 8 en mosaïque, avec discordance de résultats entre les différents prélèvements effectués.

#### Méthodes et Résultats :

La patiente 1 a eu une PLA à 17 SA pour âge maternel montrant une trisomie 8 en mosaïque sur un clone complet et un demi clone. Une deuxième PLA a été réalisée à 19 SA ne retrouvant aucune anomalie (FISH : sonde CEP8 (Abott)). A ce terme, l'échographie mettait en évidence une pyélectasie bilatérale et un hydramnios. En post-natal, un caryotype sanguin, indiqué devant un retard de développement, a mis en évidence 75% de cellules trisomiques 8.

La patiente 2 a bénéficié d'une ponction de villosités chorales (PVC) à 12 SA pour marqueurs du 1er trimestre à 1 /140 isolés. La technique de Prenatal BoBs, effectuée en remplacement de l'examen direct, n'objectivait aucune anomalie. Nous discuterons des limites de cette technique. Le caryotype fœtal a été établi après culture de PVC, mettant en évidence une trisomie 8 en mosaïque, confirmée par FISH interphasique et métaphasique sur les deux flacons de culture (14% et 40%). Une ponction de liquide amniotique (PLA) à 18 SA n'a montré aucune cellule trisomique 8, tant en interphase qu'en sortie de culture (FISH : sonde D8Z1 (Vysis)). A 26 SA, une ponction de sang fœtal (PSF) a été réalisée. La FISH après culture a retrouvé 2 mitoses trisomiques sur les 170 analysées (1,5% de mitoses), alors qu'en interphase, le nombre de noyaux trisomiques n'était pas significatif.

#### Discussion, Conclusion :

La discordance concernant les résultats cytogénétiques des deux PLA de la patiente 1 a conduit à tort à une conclusion d'anomalie de culture pour le premier prélèvement, et donc à une décision de poursuite de la grossesse. Le diagnostic de trisomie 8 en mosaïque a été posé à l'âge de 4 ans chez l'enfant adressé en Pédiatrie pour retard de développement, dysmorphie et anomalies morphologiques.

La patiente 2 présente une discordance entre les résultats de la PVC et ceux de la PLA. Devant l'absence de cellules trisomiques sur la PLA et l'absence d'anomalie visible sur les échographies en centre de référence, le diagnostic de mosaïque confinée au placenta a été retenu, permettant un conseil génétique rassurant. Toutefois, la présence de mitoses trisomiques sur la PSF a remis en question le précédent conseil génétique, en émettant des réserves sur le développement psychomoteur fœtal. Une interruption médicale de grossesse a eu lieu au terme de 32 SA.

L'intérêt d'une ponction de sang fœtal en cas de discordance entre les différents prélèvements prénataux sera discuté en cas de trisomie 8 en mosaïque.

**Mots-clefs :** Trisomie 8 en mosaïque, Conseil génétique prénatal, Ponction de sang foetal

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B046/#379

### Diagnostic prénatal d'un syndrome de Waardenburg avec mutation homozygote du gène PAX3

Frédéric GROSJEAN (1), Jean CHIESA (2), Jean Yves COL (3), Philippe KHAU VAN KIEN (2), Eve MOUSTY (1), Yulilia PETROV (4), Dorothée REBOUL (2), Mathieu MAKOSSO (5), Véronique PINGAULT (6)

1. Gynécologie Obstétrique, CHU CAREMEAU, NIMES, France
2. Cytogénétique et Génétique Médicale, CHU CAREMEAU, NIMES, France
3. Gynécologie Obstétrique, C H, AVIGNON, France
4. Cytogénétique et Génétique Médicale, CHU CAREMEAU, NIMES, France
5. Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier, BAGNOL/CEZE, France
6. Biochimie et Génétique, GH Henri MONDOR, PARIS, France

**Auteur correspondant :** CHIESA Jean (jean.chiesa@chu-nimes.fr)

Le syndrome de Waardenburg (SW) de type I est une maladie autosomique dominante caractérisée par une surdité neurosensorielle, une dystopie des canthi, des anomalies de la pigmentation de la peau et des cheveux. Nous décrivons ici un très rare cas de diagnostic prénatal (DPN) chez un couple consanguin des gens du voyage atteints tous deux d'un SW de type I. Il s'agit d'une première grossesse. La patiente est vue à 12 SA, l'échographie du premier trimestre révèle un tableau poly malformatif avec un hygroma coli, une holoprosencéphalie, des pieds et mains bottes. Un prélèvement de sang maternel est réalisé et une biopsie de trophoblaste pour un Diagnostic Prénatal de Syndrome de Waardenburg. Une mutation faux-sens du gène PAX3 est trouvée à l'état hétérozygote chez la patiente et à l'état homozygote chez le fœtus. Le caryotype fœtal est normal : 46,XY. la grossesse est interrompue. Nous discutons de la rare description de mutations homozygotes de PAX3 dans la littérature et du caractère particulièrement délétère de celle-ci.

**Mots-clefs :** Syndrome de Waardenburg, Diagnostic Prénatal, Gène PAX3

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B047/#413

### Technique Karyolite BoBs : bilan d'un an d'utilisation en routine pour le diagnostic prénatal direct

Capucine Hyon (1), Nicole Joyé (2), Sylvie Giacuzzo (2), Sylvie Lucchini (2), Jean-Marie Jouannic (3), Frédéric Richard (4), Marc Dommergues (5), Sandra Chantot-Bastaraud (6), Marie-France Portnoi (6), Jean-Pierre Siffroi (6)

1. Service de Génétique et Embryologie Médicales, AP-HP, Groupe Hospitalier Universitaire de l'Est Parisien - Armand Trousseau, Paris, France
2. Service de Génétique et Embryologie Médicales, AP-HP, Groupe Hospitalier Universitaire de l'Est Parisien - Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de Diagnostic anténatal, médecine foetale et échographie, AP-HP, Groupe Hospitalier Universitaire de l'Est Parisien – Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Service de Gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction, AP-HP, Groupe Hospitalier Universitaire de l'Est Parisien – Hôpital Tenon, Paris, France
5. Service de Gynécologie-obstétrique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière – Charles Foix, Paris, France
6. Service de Génétique et Embryologie Médicales, AP-HP, Groupe Hospitalier Universitaire de l'Est Parisien – Hôpital Trousseau, Paris, France

**Auteur correspondant :** Hyon Capucine (capucinehyon@gmail.com)

Les méthodes de diagnostic rapide des aneuploïdies se sont largement développées avec notamment l'utilisation de la FISH directe sur liquide non cultivé. De nombreux laboratoires utilisent maintenant la technologie Prenatal BoBs qui permet non seulement le diagnostic des aneuploïdies les plus fréquentes mais également celui de certains syndromes microdélétionnels. Nous avons mis en place dans notre laboratoire le diagnostic rapide par la méthode Karyolite BoBs qui repose sur la même méthode mais qui permet de faire le diagnostic des aneuploïdies de l'ensemble des chromosomes en rendant possible également celui des anomalies de structures déséquilibrées de plus ou moins grande taille.

L'objectif du travail a été d'évaluer l'apport de cette méthode pour le diagnostic prénatal rapide en routine des aneuploïdies et des remaniements chromosomiques de grande taille pendant un an au laboratoire de cytogénétique.

Sur les 997 prélèvements reçus au laboratoire, nous avons effectué 717 examens BoBs et 211 FISH directes ou examens directs de villosités chorales. Nous avons eu un taux d'échec

Cette méthode nous offre la possibilité de réaliser un diagnostic rapide pour un grand nombre d'échantillon avec une diminution du temps technique et médical nécessaire. Elle nous permet également de faire le diagnostic de certaines anomalies de structure permettant ainsi une prise en charge plus rapide des patientes. Malgré son coût plus élevé, la technique Karyolite BoBs est une alternative intéressante à la pratique de la FISH grâce à son automatisation et au nombre de diagnostics qu'elle autorise. Son évaluation doit être poursuivie, notamment par rapport à d'autres techniques moléculaires susceptibles d'être utilisées de façon routinière en cytogénétique prénatale.

**Mots-clefs :** Karyolite BoBs, Diagnostic prénatal, Diagnostic rapide

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B048/#418

### Chimère : du mythe à la réalité ...

Mélanie JIMENEZ-POCQUET (1), Agathe PAUBEL (1), Damien HAYE (1), Luc DRUART (2), Sophie BLESSON (1), Viviane HIMILY (1), Marie Pierre MOIZARD (1), Martine RAYNAUD (1), Evelyne JAGUT (1), Franck PERROTIN (3), Annick TOUTAIN (1)

1. Service de Génétique, CHRU de Tours, Tours, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, Laboratoire Biomnis, Paris, France
3. Unité de Médecine Foetale, CHRU de Tours, Tours, France

**Auteur correspondant :** JIMENEZ-POCQUET Mélanie (m.jimenez.pocquet@gmail.com)

Un individu chimérique est issu de la fusion d'au moins deux populations cellulaires ayant des génotypes différents. Les cas de chimérisme maternofœtal, ou iatrogène (greffe de moelle osseuse), sont bien décrits. En revanche, la description de véritables chimères, formées dans les stades précoces de l'embryogénèse, est plus rare. Dans la littérature, une trentaine de cas de chimérisme avec discordance de sexe ont été décrits, 5 étant associés à une aneuploïdie (dont 4 trisomies 21).

Nous rapportons un cas de chimérisme avec discordance de sexe associé à une trisomie 15 sur la population cellulaire féminine.

Mme L, 39 ans, a eu une amniocentèse pour convenance personnelle au terme de 17 SA. Il s'agissait d'une grossesse gémellaire bi-choriale bi-amniotique dont un des jumeaux a involué à 8 SA (vérifié sur les échographies de 12 et 17 SA). L'analyse par cytogénétique conventionnelle du liquide amniotique (LA) a diagnostiqué une trisomie 15 libre, complète et homogène chez un fœtus de sexe féminin (47,XX,+15). La demande d'interruption médicale de grossesse formulée par le couple a été jugée recevable.

L'examen fœtopathologique a mis en évidence un sexe masculin, sans anomalie morphologique par ailleurs. Devant la discordance de sexe, plusieurs examens sont effectués : des FISH interphasiques sur le culot restant de LA (tube primaire), sur le frottis jugal du fœtus, sur des coupes placentaires paraffinées, des examens de microsatellites et une culture de fibroblastes pour étude du caryotype.

Ces analyses montrent qu'il n'y a pas eu d'échange de tubes lors du prélèvement de LA (exclusion de filiation sur les cultures des prélèvements du même jour). Concernant l'étude des microsatellites sur l'ADN extrait de la culture de LA et l'ADN extrait du foie fœtal, la filiation est concordante. Sur la culture de LA, on confirme de manière homogène la trisomie 15 d'origine maternelle et la présence de 2 chromosomes X. Sur le foie fœtal, on retrouve de manière homogène les marqueurs de deux chromosomes 15, un X et un Y. Les microsatellites étudiés sur l'ADN de la culture de LA et sur l'ADN du foie fœtal sont en faveur de matériels issus d'une même fratrie. La culture de fibroblastes a été un échec. La FISH sur lames paraffinées de coupes placentaires a mis en évidence une majorité de cellules XY, avec quelques rares cellules XX, au cœur de l'axe mésenchymateux et du syncytiotrophoblaste.

Nous avons conclu à l'existence d'une chimère issue d'une fusion très précoce d'un zygote XY et d'un zygote XX,+15.

Le fait d'avoir retrouvé de façon homogène une formule 47,XX,+15 sur le LA, avec un placenta majoritairement XY et un fœtus de sexe masculin, reste inexpliqué.

Le diagnostic de chimère reste ici un diagnostic d'exclusion. La discussion reste ouverte

**Mots-clefs :** chimérisme, trisomie 15, diagnostic prénatal



## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B049/#423

### La mucopolidose de type II : un diagnostic différentiel de l'ostéogenèse imparfaite et de l'hypophosphatasie à évoquer en anténatal.

Zohor AZHER (1), Patricia BLANCHET (2), Olivier PRODHOMME (3), Alain COUTURE (3), Françoise DESCHAMPS (4), Thierry LEVADE (5), Roseline FROISSART (6), Pierre SARDA (2), David GENEVIEVE (2), Marjolaine WILLEMS (2)

1. Centre de Référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Département d'Imagerie Pédiatrique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Imagerie Echographique, Centre d'Echographie des Tonnelles, Montpellier, France
5. Laboratoire de Biochimie, Hôpital Purpan, Toulouse, France
6. Service des Maladies Héritaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

**Auteur correspondant :** WILLEMS Marjolaine (m-willems@chu-montpellier.fr)

La Mucopolidose de type II (ou I-cell disease), est une maladie lysosomale rare, de transmission autosomique récessive, due à un défaut de l'enzyme N-acétylglucosaminyl-1-phosphotransférase, entraînant un défaut d'adressage de nombreuses enzymes lysosomales.

Les signes cliniques incluent l'apparition progressive d'une dysmorphie avec hypertrophie gingivale, macroglossie et traits épais, de contractions articulaires, d'une hépatomégalie, d'opacités cornéennes, d'une surdité, d'un retard psychomoteur et d'anomalies osseuses avec pieds bots, anomalie de modelage prédominante sur les os longs et déminéralisation. Dans la forme classique, les signes cliniques et radiographiques apparaissent durant la période anténatale ou néonatale, conduisant au décès dans l'enfance par complications cardio-respiratoires.

Nous présentons le cas d'un enfant marocain atteint de mucopolidose de type II confirmée génétiquement. Il s'agit de la troisième enfant de parents cousins germains, pour laquelle a été détecté en anténatal à 22SA un retard de croissance intra-utérin prédominant sur les os longs et épargnant le pôle céphalique, associé secondairement à des angulations des membres. Le scanner osseux réalisé à 27 SA a mis en évidence un défaut de minéralisation global du squelette avec des contours osseux flous. En anténatal, ont été envisagées les hypothèses diagnostiques d'une ostéogenèse imparfaite et d'une hypophosphatasie. Les parents ont souhaité une poursuite de la grossesse.

A la naissance, l'enfant a présenté une détresse respiratoire puis une évolution clinique rapidement défavorable avec une infiltration globale des tissus mous (hépatomégalie, hypertrophie gingivale, macroglossie). Elle est décédée à l'âge d'un mois, après dégradation respiratoire progressive. Les radiographies révélaient de multiples fractures, ainsi qu'une trame osseuse très anormale avec aspect feuilleté. L'existence d'une hyperphosphatasie et d'une hyperparathyroïdie, ainsi que l'évolution clinique, ont rapidement fait suspecter le diagnostic de mucopolidose de type II. Ce diagnostic a été confirmé par le dosage des hydrolases acides dans le sérum révélant une activité augmentée, puis par biologie moléculaire du gène GNPTAB, qui a permis d'identifier la mutation (c.3280T>C;pCys1094Arg) à l'état homozygote.

Quoique rare, la mucopolidose de type II est un diagnostic différentiel à évoquer systématiquement en anténatal devant l'association d'une déminéralisation osseuse et d'un retard de croissance intra-utérin prédominant sur les os longs, avec possibilité d'incurvation. L'aspect flou des contours osseux à l'échographie et au scanner osseux réalisés en anténatal, puis l'aspect feuilleté observé sur les

radiographies standards dès la naissance peuvent faire suspecter ce diagnostic. L'hyperphosphatasie est fortement évocatrice. Un diagnostic prénatal est possible. L'évolution est constamment défavorable, impliquant la nécessité d'un diagnostic le plus précoce possible.

**Mots-clefs :** Mucopolidose de type II, Déminéralisation osseuse, Retard de croissance intra-utérin

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B050/#431

### Manifestations prénatales du syndrome de Goltz

Philippe DENIZEAU (1), Agnes GUICHET (2), Estelle COLIN (1), Dominique BONNEAU (1), Stephane TRIAU (3), Emilie AUBERGER (4), Anne Lyse DELEZOIDE (5)

1. Génétique médicale, CHU Angers, Angers, France
2. Cytogénétique, CHU Angers, Angers, France
3. anatomie pathologique, CHU Angers, Angers, France
4. Foetopathologie, Institut Simone Veil, Eaubonne Montmorency, France
5. anatomie pathologie, Hopital Robert Debrès, Paris, France

**Auteur correspondant :** DENIZEAU Philippe (phildenizeau@gmail.com)

**Introduction** Le syndrome de Goltz (SG) est caractérisé par une atteinte cutanée (hypoplasie dermique en aire, papillomes péri-orificiels...) associée à des anomalies squelettiques, ophtalmologiques et neurologiques. Ce syndrome se transmet selon le mode dominant lié à l'X avec une létalité in utero pour les garçons hémizygotés et est causé par des mutations du gène PORCN.

**Cas Cliniques** Nous rapportons deux cas de fœtus de sexe féminin de 34 semaines d'aménorrhées ayant un retard de croissance intra-utérin dysharmonieux, des syndactylies bilatérales des 4 extrémités associées à une ostéopathie striée. Le cas 1 présente également une fente sternale et le cas 2 une hernie diaphragmatique. Le syndrome de Goltz, évoqué sur l'examen foetopathologique par la présence de lésions dermatologiques caractéristiques, a été confirmé par la mise en évidence d'une mutation non-sens dans le gène PORCN pour chacun des fœtus.

**Discussion** Le syndrome de Goltz foetal est rare et la revue de la littérature n'a permis de retrouver que 4 cas foetaux et 8 cas diagnostiqués en période néonatale. Tout les cas foetaux avaient une anomalie de la cage thoracique. Le SG peut être évoqué en prénatal sur la coexistence de plusieurs signes : anomalies des extrémités, coelomie supérieure, fente sternale, anomalies diaphragmatiques et anomalies oculaires. Néanmoins, ce diagnostic reste difficile et doit être confirmé après la naissance ou après l'interruption de grossesse par la présence d'anomalies cutanées et radiologiques spécifiques (ostéopathie striée) puis par la mise en évidence de mutation du gène PORCN.

**Mots-clefs :** Goltz-Gorlin, prénatal, revue de la littérature

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B051/#449

### Complications périnatales du Syndrome de Beckwith-Wiedemann : données obstétricales et néonatales d'une série rétrospective de 84 patients sur la région Grand Ouest

Marie Gromand (1), Laurent Pasquier (1), Sylvie Rossignol (2), Philippe Parent (3), Séverine Audebert (3), Dominique Martin-Coignard (4), Albert David (5), Sandra Mercier (5), Bertrand Isidor (5), Claire Bénéteau (5), Estelle Colin (6), Dominique Bonneau (6), Brigitte Gilbert-Dussardier (7), Marine Legendre (7), Annick Toutain(8), Sophie Blesson(8), Damien Haye(8), Hubert Journal(9), Philippe Loget(10), Mélanie Fradin(1), Chloé Quélin (1), Irène Netchine (11), Sylvie Odent (1)

1. Génétique Clinique, CLAD-Ouest, Hôpital Sud- CHU Rennes, Rennes, France
2. Laboratoire d'explorations fonctionnelles endocriniennes, CHU Paris Est - Hôpital Armand-Trousseau, Paris 12, France
3. Génétique Clinique, CLAD-Ouest, CHU Morvan, Brest, France
4. Génétique, CH Le Mans, Le Mans, France
5. Génétique Médicale, CLAD-Ouest, CHU Nantes- Hôpital Mère-Enfant, Nantes, France
6. Génétique Médicale, CLAD-Ouest, CHU Angers, Angers, France
7. Génétique Médicale, CLAD-Ouest, CHU Poitiers, Poitiers, France
8. Génétique Médicale, CLAD-Ouest, Hôpital Bretonneau- CHU de Tours, Tours, France
9. Génétique Médicale, CLAD-Ouest, CH Vannes, Vannes, France
10. Anatomie-Pathologique, Hôpital Pontchaillou- CHU Rennes, Rennes, France
11. Laboratoire d'explorations fonctionnelles endocriniennes, CHU Paris Est - Hôpital Armand-Trousseau, Paris 12, France

**Auteur correspondant :** Odent Sylvie (sylvieodent@gmail.com)

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann ( SBW) est un syndrome d'hypercroissance lié à des anomalies génétiques ou épigénétiques de la région 11p15.5, dont le diagnostic est évoqué parfois en prénatal sur les données échographiques, ou en post-natal sur les données morphologiques ou des complications (malformations ou hypoglycémie). Objectif : déterminer la prévalence des complications périnatales en cas de nouveau-né porteur d'un SBW. Critères d'inclusion : diagnostic de SBW confirmé en génétique moléculaire, et être suivi par un des services de génétique de la région Grand-Ouest (Rennes, Brest, Le Mans, Nantes, Angers, Poitiers, Tours, Vannes). Résultats : sur une période de 1993 à 2013, 85 patients ont été inclus. Le terme moyen de naissance était de 36 SA et 5 jours, et la prématurité concernait 27.4% des cas ( 23/78). La pré-éclampsie concernait 14.3% des grossesses ( 11/77) et l'HTA gravidique 6.4% ( 5/77 ). Il s'agissait le plus souvent de formes sévères et précoces de ces complications vasculaires, induisant une prématurité dans 56.2% des cas (9/16). L'hypoglycémie néonatale, complication classique du SBW, était retrouvée chez 34.7% des patients (26/75) et l'évocation anténatale du syndrome permet souvent une prise en charge précoce et l'absence de complications graves liées à l'hypoglycémie. La mortalité néonatale était de 3.6 %, ces 3 décès étant liés à des complications d'une anoxo-ischémie néonatale, et survenaient entre 30 minutes et 18 jours de vie. Trois grossesses se sont terminées par une IMG pour syndrome poly-malformatif et une autre par une mort fœtale in utero à 26 SA. Conclusion : Malgré les progrès de l'échographie obstétricale et de la prise en charge néonatale, le SBW est encore associé à des complications périnatales, sur le plan maternel et fœtal, avec une morbi-mortalité non négligeable.

**Mots-clefs :** Syndrome de Beckwith-Wiedemann, chromosome 11p15.5, complications périnatales

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B052/#458

### Un marqueur chromosomique surnuméraire analphoïde du chromosome 3 en prénatal

G. EGEE (1), M. BECKER (2), M. TAoudi (2), C. RANIERI (1), D. AHMMED (1), S. EL MOUATASSIM (2)

1. Génétique, Biomnis, Lyon, France
2. Génétique, biomnis, Lyon, France

**Auteur correspondant :** EGEE Grégory (gregoryege@gmail.com)

Alison G., 17 ans, est adressée en consultation de diagnostic prénatal en raison de plusieurs signes échographiques observés lors de l'examen au terme de 25 + 0 semaines d'aménorrhées.

En effet, l'échographie révèle une hypotrophie fœtale très inférieure au 3ème percentile, prédominante sur le fémur et le périmètre abdominal, une inversion cérébro placentaire, une hyperéchogénicité intestinale, une oligoamnios et une ensellure nasale en « coup de hache ».

Une amniocentèse pour un caryotype et une recherche de CMV est réalisée dans le cadre de ce retard de croissance intra utérin majeur.

Le caryotype réalisé sur les cellules du liquide amniotique a révélé la présence d'un marqueur chromosomique surnuméraire (MCS) dans environ 50% des cellules examinées.

Le caryotype des parents est normal et ils n'ont pas de problèmes particuliers.

Ce MCS n'a pas été identifié par les techniques de cytogénétiques conventionnelles (absence de marquage en bandes C et en NORs) ni par les études en FISH réalisées avec les sondes centromériques 13/21, 14/22 et celles des chromosomes 15.

Afin de caractériser au mieux l'anomalie chromosomique, une analyse chromosomique sur une puce pangénomique Illumina® CytoSNP-12 contenant 300000 marqueurs a été réalisée.

Cet examen a permis d'objectiver un gain en mosaïque en 3q26q29 d'environ 3Mb (de 167,349,698 à 197,781,444 ;hg19).

Afin de confirmer ce résultat, une étude en FISH a été réalisée avec la sonde LSI BCL6 (3q27) et une sonde hybridant tous les centromères.

Au final, il s'agit d'un MCS(3) avec un néocentromère, en mosaïque estimée à 50%, caractérisé par deux copies de la région 3q26q29, c'est-à-dire une

inv dup(3)(qter→q26::q26→qter).

Le foetus présente donc un caryotype en mosaïque impliquant un MCS du chromosome 3 de novo (avec présence d'euchromatine) responsable d'une tétrasomie 3q partielle.

Une interruption médicale de grossesse a été réalisée.

L'observation d'un MCS néocentromérique est un événement rare, et à notre connaissance, seulement 9 cas avec un tel marqueur ont été rapportés, dont 3 en prénatal.

Dans la littérature, la région critique 3q26.3q27 est responsable du syndrome de duplication 3q, avec un phénotype similaire au syndrome de Cornélia de Lange.

En effet, le fœtus porteur de ce MCS(3) en mosaïque présente bien des signes de ce syndrome avec en particulier le retard de croissance intra utérin et la légère dysmorphie observée (ensellure nasale en coup de hache).

Nous présenterons au travers ce cas, en prénatal, le syndrome de duplication 3q qui associe des manifestations du syndrome de Cornélia de Lange.

**Mots-clefs :** Marqueur Chromosomique Surnuméraire, néocentromère, tétrasomie partielle

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B053/#468

### Anomalies chromosomiques limitées au placenta homogènes impliquant des chromosomes pour lesquels il existe une viabilité fœtale : ces anomalies sont-elles sous-estimées ?

Jérôme TOUTAIN (1), Alain LIQUIER (2), Hakima LALLAOUI (3), Céline ROTA (4), Frédéric COATLEVEN (5), Cécile LABEAU-GAUZERE (6), Corinne BELCIKOWSKI (7), Dominique CARLES (8), Didier LACOMBE (1), Jacques HOROVITZ (5), Robert SAURA (1)

1. Génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Cytogénétique, Laboratoire Biooffice, Bordeaux, France
3. Cytogénétique, Laboratoire Cylab, La Rochelle, France
4. Gynécologie-obstétrique, CHR de Libourne, Libourne, France
5. Gynécologie-obstétrique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Gynécologie-obstétrique, CH de la Côte Basque, Bayonne, France
7. Gynécologie-obstétrique, CH de Pau, Pau, France
8. Anatomopathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** TOUTAIN Jérôme (jerome.toutain@chu-bordeaux.fr)

**Introduction:** Les anomalies chromosomiques limitées au placenta consistent essentiellement en des trisomies homogènes ou en mosaïque siégeant au niveau du cytotrophoblaste et/ou de l'axe mésenchymateux villositaire. Les anomalies chromosomiques limitées au placenta homogènes impliquant des chromosomes pour lesquels il existe une viabilité fœtale (trisomies 13, 18 et 21) ont rarement été décrites dans la littérature. Dans notre expérience, plus de 28000 biopsies chorales et placentaires, nous n'avons jamais observé ce type d'anomalies. En théorie, il n'existe pas d'argument pour que les anomalies chromosomiques limitées au placenta homogènes impliquant les chromosomes 13, 18 ou 21 surviennent de façon moins fréquente que les anomalies chromosomiques limitées au placenta impliquant les autres chromosomes. En pratique, lorsqu'une trisomie homogène viable est identifiée au niveau placentaire, nous la considérons toujours comme une trisomie fœtale vraie, aucun contrôle de la formule chromosomique par amniocentèse n'est alors réalisé. **Cas cliniques:** Entre mars et aout 2013, trois cas d'anomalies chromosomiques limitées au placenta de type 3 (anomalie chromosomique identifiée au niveau des cellules du cytotrophoblaste et de l'axe mésenchymateux), homogènes et impliquant les chromosomes 13 (cas 1) et 18 (cas 2 et 3) ont été diagnostiqués en Aquitaine. Les indications du diagnostic prénatal étaient un retard de croissance intra-utérin isolé (cas 1, trisomie 13 limitée au placenta) ou des facteurs sériques du premier trimestre pathologiques en l'absence de signe d'appel échographique (cas 2 et 3, trisomies 18 limitées au placenta). Le cas 1 a bénéficié initialement d'une amniocentèse, puis d'une placentocentèse afin de rechercher une anomalie chromosomique limitée au placenta pouvant expliquer le retard de croissance intra-utérin sévère. Les cas 2 et 3 ont quant à eux bénéficié d'un contrôle de la formule chromosomique par amniocentèse en raison d'un échec de la culture des villosités chorales. Un retard de croissance intra-utérin sévère et isolé a été à déplorer pour les trois patientes, conduisant à une mort fœtale in utero (cas 1, trisomie 13 limitée au placenta), une interruption de la grossesse en raison d'un retard de croissance intra-utérin sévère (cas 2, trisomie 18 limitée au placenta) et à un accouchement prématuré à 32 semaines d'aménorrhée (cas 3, trisomie 18 limitée au placenta, poids de naissance au 3ème percentile). **Conclusion:** Ces cas cliniques illustrent à nouveau que les anomalies chromosomiques limitées au placenta de type 3 homogènes sont associées à des retards de croissance intra-utérin sévères. Par ailleurs, si la fiabilité du caryotype placentaire n'est plus à démontrer, ces cas cliniques posent toutefois la question de la réalisation d'une amniocentèse de contrôle lorsqu'une trisomie homogène viable est diagnostiquée au niveau placentaire sur signe d'appel biologique seul ou devant un retard de croissance intra-utérin isolé.

**Mots-clés :** Anomalies chromosomiques limitées au placenta, Retard de croissance intra-utérin, Amniocentèse de contrôle

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B054/#470

### Microdélétion 6q23.3 identifiée en prénatal par micropuce à ADN chez des jumeaux monozygotes porteurs d'une translocation apparemment équilibrée t(9 ;10)(p23 ;q25) de novo.

Céline Dupont (1), Jonathan Rosenblatt (2), Maud Blanluet (1), Camille Leroy (1), Martine Montagnon (1), Cécile Lelong (1), Adeline Thaly (1), Suonavy Khung-Savatovsky (3), Emmanuel Spaggiari (3), Brigitte Benzacken (1), Jean-François Oury (2), Anne-Claude Tabet (1)

1. Département de Génétique- Unité Fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
2. Gynécologie Obstétrique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
3. Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France

**Auteur correspondant :** Dupont Céline (c.dupont@rdb.aphp.fr)

Le diagnostic prénatal chromosomique repose de plus en plus sur l'utilisation de micropuces à ADN qui permet la recherche pangénomique de remaniements chromosomiques déséquilibrés. De nombreuses études ont montré l'intérêt de ces techniques de cytogénétique moléculaire en diagnostic prénatal en dépit de leur interprétation parfois difficile.

Les anomalies chromosomiques apparemment équilibrées de novo peuvent être associées à un déséquilibre chromosomique cryptique au niveau d'un point de cassure ou ailleurs sur le génome identifiable par puce à ADN et responsable du phénotype anormal.

Nous rapportons le cas d'une microdélétion cryptique identifiée par micropuce à ADN dans le cadre d'un diagnostic prénatal chez deux fœtus jumeaux porteurs d'une translocation apparemment équilibrée de novo. Ces deux fœtus étaient issus d'une grossesse gémellaire monochoriale biamniotique obtenue par FIV/don d'ovocytes en Espagne. La patiente a été adressée au centre de diagnostic prénatal pour hyperclarté nucale à 3.3 mm chez un des jumeaux. Un caryotype fœtal a été réalisé sur le liquide amniotique de ce jumeau.

Le caryotype foetal a montré une translocation apparemment équilibrée entre le bras court d'un chromosome 9 et le bras long d'un chromosome 10 : 46,XY,t(9 ;10)(p23 ;q25). L'autre jumeau a été prélevé et montrait la même anomalie. Les caryotypes du père et de la donneuse se sont révélés normaux. Devant cette anomalie apparemment équilibrée survenue de novo, une recherche de microremaniements chromosomiques a été réalisée par micropuce à ADN (SNP array, Illumina Human Cyto SNP-12 V2-1). Cette analyse a confirmé la nature équilibrée de la translocation, notamment au niveau des points de cassures mais a mis en évidence chez les deux jumeaux, une microdélétion de la région 6q23.3 d'une taille de 956 kb (arr[hg19] 6q23.3(136,508,916-137,464,916)x1). Cette anomalie a été confirmée par FISH (sonde RP11-203P15) chez les deux fœtus. La FISH s'est révélée normale chez le père et la donneuse d'ovocytes.

La microdélétion 6q23.3 des fœtus emporte au moins 12 gènes dont la plupart sont d'expression ubiquitaire et/ou neuronale et participent à des processus biologiques fondamentaux pour le développement. Cette microdélétion n'est pas rapportée dans les bases de données de polymorphisme ni dans la littérature comme étant associée à un phénotype particulier. Un conseil génétique difficile a été réalisé, expliquant le caractère inquiétant du nombre et de la nature des gènes emportés par cette microdélétion tout en ne pouvant pas prédire les conséquences exactes de cette perte sur le développement neurologique des fœtus. Aucune malformation n'était visible à



l'échographie. Une IMG a été réalisée au terme de 32 SA. L'autopsie n'a pas été souhaitée par les parents. Ce cas illustre l'intérêt du diagnostic chromosomique prénatal par micropuces à ADN mais montre aussi les difficultés d'interprétation de certains microremaniements malgré une taille proche de 1 Mb.

**Mots-clefs** : 6q23, ACPA et DPN, translocation apparemment équilibrée

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

**B055/#477**

### Anneau du chromosome 21 diagnostiqué en prénatal suite à un retard de croissance intra-utérin : Cas et revue de la littérature.

Fatma Abdelhedi (1), Laïla El Khattabi (1), Aurélie Ménard (1), Vassilis Tsatsaris (2), Patricia Hornoy (2), Aziza Lebbar (1), Jean-Michel Dupont (1)  
1. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, Paris, France  
2. Service de Gynécologie Obstétrique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, Paris, France

**Auteur correspondant** : ABDELHEDI Fatma (abdelhedi\_f@yahoo.fr)

Le chromosome en anneau est une anomalie cytogénétique rare qui peut survenir pour tous les chromosomes. Les patients qui en sont porteurs présentent presque tous un retard de croissance intra-utérin (RCIU) et postnatal d'où la qualification de « ring syndrome » par certains auteurs. L'anneau du chromosome 21, r(21), a été décrit chez des patients présentant un phénotype clinique variable, allant d'un phénotype normal à la déficience intellectuelle associée à une dysmorphie faciale, une épilepsie et des malformations congénitales. Cinq cas de r(21) diagnostiqués en prénatal ont été rapportés à ce jour. Dans trois cas seulement une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) a été réalisée.

Nous rapportons le premier cas d'un anneau du 21 homogène diagnostiqué en prénatal. Il s'agit d'une femme de 25 ans sans antécédents pathologiques particuliers et dont la grossesse a été peu suivie. L'échographie réalisée à 22 SA a montré un BIP au 3e percentile. Elle a objectivé à 32 SA un RCIU sévère, une microcéphalie à -4DS et une dilatation modérée des troisième et quatrième ventricules. L'IRM cérébrale a confirmé la dilatation ventriculaire et a révélé une gyration simplifiée ainsi que des petits lobes frontaux. Une amniocentèse est effectuée à 33 SA et le caryotype foetal montre la présence d'un r(21) homogène. Les caryotypes parentaux sont normaux. L'ACPA a mis en évidence une délétion terminale de 13 Mb (hg18 : 33.933.673 à 46.915.771) en 21q22.11-q22.3 qui emporte la région critique du Down Syndrome (DSCR). Une interruption thérapeutique de la grossesse a été réalisée à 36 SA. L'examen fœtopathologique a été refusé par le couple.

L'anneau du 21 est une anomalie très rare en prénatal. Sa découverte est le plus souvent fortuite. L'analyse des données de la littérature montre que l'absence de signes échographiques serait associée à des délétions terminales de petite taille et inversement. Parmi les cinq patients précédemment rapportés, un seul présentait un signe d'appel échographique à savoir un RCIU, comme chez notre patient. Notre fœtus est le seul à avoir des malformations cérébrales. En comparant ces différentes observations, il apparaît que la délétion de la région DSCR (hg18 : 36.000.000-40.500.000 pb environ) qui contient notamment le gène DYRK1A pourrait être responsable des anomalies cérébrales. La caractérisation moléculaire par ACPA de cet anneau permet un début de corrélation génotype-phénotype qui reste à affiner avec d'autres cas.

**Mots-clefs** : Anneau du chromosome 21, diagnostic prénatal, ACPA

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

**B056/#510**

### Fonctionnement et prise en charge des patients dans le centre de diagnostic pré-implantatoire de Montpellier

Aliya Ishmukhametova (1), Stéphanie Plaza (1), Florielle Saguet (1), Garance Verrières (1), Victoria Viart (1), Marjolaine Willems (2), Christine Coubes (2), Isabelle Coupier (3), Emmanuelle Haquet (2), Cécile Teissier (4), Sophie Bringer-Deutsch (4), Tal Anahory (4), Mireille Claustres (1), Anne Girardet (1)  
1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, INSERM U 827, CHRU de Montpellier, Montpellier, France  
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France  
3. Service d'Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France  
4. Pôle mère-enfant, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant** : Ishmukhametova Aliya (aliya.ishmukhametova@inserm.fr)

Le diagnostic génétique pré-implantatoire (DPI) est pratiqué en France dans 4 centres pluridisciplinaires autorisés par l'Agence de la Biomédecine.

Nous présentons ici le fonctionnement du centre de DPI de Montpellier, dont l'activité a débuté en 2002, ainsi que les modalités de prise en charge des couples.

Les demandes de DPI nous sont adressées par courrier, soit par un médecin –le plus souvent généticien–, soit par les couples eux-mêmes. Toutes les demandes sont examinées une fois par mois lors d'un staff pluridisciplinaire, réunissant généticiens et cytogénéticiens moléculaires et cliniciens, gynécologues, spécialistes de la biologie de la reproduction, psychologue et sage-femme coordinatrice.

Chaque demande est discutée au cas par cas, en tenant compte de la pathologie, de l'histoire familiale, du type de mutation etc ... et une décision est prise quant à l'acceptation de la demande a priori, c'est-à-dire avant toute étude de faisabilité génétique et gynécologique. Une réponse écrite est faite à l'issue de chaque staff et tous les dossiers sont examinés par le Centre Pluridisciplinaire Diagnostic Pré-Natal (CPDPN) du CHRU de Montpellier.

Un bilan de réserve ovarienne est ensuite réalisé ; si ce bilan est validé par les gynécologues du centre de DPI de Montpellier, l'étude de faisabilité génétique pré-DPI peut débuter, à partir de prélèvements sanguins et/ou d'ADN de la famille sollicitant le DPI. Cette étape est plus ou moins longue : l'analyse est plus rapide pour des maladies fréquentes tels que la mucoviscidose, la maladie de Huntington etc ... et elle peut être beaucoup plus longue lorsqu'un protocole individuel doit être développé pour un couple ou qu'un diagnostic à l'échelle unicellulaire doit être mis au point pour une maladie non encore étudiée dans le laboratoire. A l'issue de cette étude de faisabilité génétique, les différents intervenants du centre de DPI sont informés et le couple est alors convoqué à une réunion pluridisciplinaire sur Montpellier. La date approximative de la première tentative de DPI est communiquée au couple à ce moment-là. La stimulation ovarienne, dont le protocole est défini par les gynécologues de notre centre, peut débuter à distance, puis le couple se rend à Montpellier pour la récupération du sperme et des ovocytes et la réalisation de la fécondation in vitro par injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI). Au stade 8 cellules (le troisième jour du développement), les embryons sont biopsiés (un ou deux blastomères sont prélevés) pour l'analyse génétique et les résultats sont communiqués au couple sous 24h. Les embryons indemnes de la maladie recherchée peuvent être transférés (le 4ème jour du développement). En cas de succès de cette tentative, l'évolution de la grossesse est suivie par le gynécologue du couple. Après la naissance du ou des enfants issus du DPI, le couple a la possibilité de redemander une nouvelle prise en charge. Chaque nouvelle demande est réévaluée par notre centre.

**Mots-clefs** : centre de diagnostic pré-implantatoire de Montpellier, prise en charge des patients, fonctionnement du centre de DPI



## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B057/#542

### Mosaïque germinale du gène PAX6

Joelle BEAUDOU (1), Patrick CALVAS (2), Nicolas CHASSAING (2), Veronique GASTON (1), Charlotte GAUTIER (2), Nicole PHILIPP (3), Julie PLAISANCIE (2), Sabine SIGAUDY (3)

1. Biologie moléculaire, CHU Purpan, TOULOUSE, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, TOULOUSE, France
3. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone Enfant, Marseille, France

**Auteur correspondant :** CALVAS Patrick (calvas.p@chu-toulouse.fr)

Le gène PAX6 est un des gènes majeurs impliqués dans le développement et la maintenance des structures oculaires. Ses mutations chez l'homme sont associées à un spectre d'anomalies du développement dominées par les anomalies oculaires dont l'aniridie est une des manifestations les plus fréquentes. L'incidence de ces anomalies est faible, évaluée entre 1/80 000 et 1/100 000 naissances. Leur présence et, en particulier l'aniridie amène à la mise en évidence d'une mutation causale du gène PAX6 dans plus de 95% des cas. A de rares exceptions près, ces mutations sont présentes à l'état hétérozygote et, l'haplo-insuffisance est le mécanisme le plus fréquemment responsable des anomalies phénotypiques rencontrées. Dans notre expérience, en accord avec la littérature internationale, les mutations sont familiales dans environ deux-tiers des cas et transmises selon le mode dominant autosomique. Dans un tiers des cas, elles apparaissent, de manière sporadique chez le cas index. Les analyses parentales sont systématiques à la recherche de mutations dont l'expression phénotypique serait passée inaperçue car, la littérature rapporte quelques cas de pénétrance incomplète. Dans notre expérience, adossée à un recrutement national et aux centres de références des anomalies du développement ou des maladies rares ophtalmologiques, l'expressivité intra familiale des mutations du gène est variable mais la pénétrance apparaît complète. En corollaire, aucune anomalie potentiellement pathogène du gène PAX6 n'a été mise en évidence chez un parent asymptomatique d'un cas index. Les formes sporadiques sont donc principalement considérées comme des néomutations survenant probablement lors de la gamétogenèse. La fréquence relative de ces néomutations a toujours fait craindre la possibilité d'une mosaïque germinale et de récurrence dans la fratrie d'un sujet atteint. Un cas de mosaïque somatique d'une grande délétion de la région 11p13.3 et de mosaïque germinale d'une délétion intragénique du gène PAX6 ont été rapportés étayant cette hypothèse. Nous décrivons la récurrence sur deux grossesses successives d'une mutation c.[52G>C]+[=], au niveau de l'exon 5 responsable du changement protéique p.[Gly18Arg]+[=] non détectées chez les parents des deux enfants laissant suspecter l'existence d'une mosaïque germinale. Il s'agit de la seule mosaïque germinale que nous ayons mise en évidence à propos de 12 diagnostics prénatals réalisés exclusivement pour le risque supposé de mosaïque germinale. La fréquence de l'évènement reste imprécise mais semble justifier l'attitude préventive.

**Mots-clefs :** Mosaïque germinale, diagnostic prénatal, PAX6

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B058/#544

### Le syndrome d'Aicardi-Goutières : un tableau rare en période anténatale

Arnaud Molin (1), Cindy Colson (1), Caroline Janel (2), Marianne Bégorre (3), Frédérique Belloy (4), Guillaume Benoist (5), Françoise Chapon (3), Marion Gérard (1), Nicolas Gruchy (1), Pierre Blanc (2), Isabelle Creveaux (2), Corinne Jeanne-Pasquier (3), Nathalie Leporrier (1)

1. Service de Génétique, CHU, Caen, France
2. Laboratoire de Biochimie médicale et Biologie moléculaire, CHU, Clermont-Ferrand, France
3. Service d'Anatomie pathologique, CHU, Caen, France
4. Service de Radiologie, CHU, Caen, France
5. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU, Caen, France

**Auteur correspondant :** Molin Arnaud (molin-a@chu-caen.fr)

Le syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS) est une maladie neurodégénérative rare et sévère à début précoce. Il s'agit d'une affection à transmission autosomique récessive, hétérozygote sur le plan génétique, avec au moins six gènes potentiellement impliqués : TREX1, RNASEH2B, RNASEH2C, RNASEH2A, SAMHD1 et ADAR. Le diagnostic est en général établi en période postnatale (plus de 80 % des cas). En prénatal, cette maladie peut mimer une infection fœtale du groupe TORCH (Toxoplasmosis, Others, Rubella, Cytomegalovirus, Herpes), en particulier celle à Cytomégalovirus (CMV) (Le Garrec et al. 2005, Desanges et al. 2006).

Nous rapportons deux observations anténatales d'AGS au sein d'une même famille consanguine sans antécédent, liées à une variation de séquence homozygote du gène RNASEH2A localisée dans l'exon 3, non décrite dans la littérature et prédite comme probablement délétère par différents algorithmes : c.317T>C (p.Leu106Pro).

Dans le premier cas, des anomalies cérébrales à l'échographie de 23 semaines (cavités porencéphaliques et foyers hyperéchogènes intracrâniens) associées à une hyperéchogénicité intestinale, une hépatomégalie, un placenta épais et un retard de croissance intra-utérin évoquent une infection à CMV, mais le bilan infectieux est négatif. Le caryotype étant normal, en l'absence d'infection avérée, la consanguinité et le taux élevé d'interféron- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) dans le sang fœtal orientent vers le diagnostic d'AGS. Une interruption médicale de grossesse est acceptée par le CPDPN. L'examen fœto-placentaire révèle de multiples microcalcifications cérébrales et confirme l'absence de signe histologique spécifique de l'infection à CMV. Le séquençage du gène RNASEH2A confirme le diagnostic et permet de proposer une prise en charge en diagnostic prénatal ou préimplantatoire pour les grossesses suivantes. Malheureusement, le couple exprime son opposition à l'information de sa parentèle alors qu'une grossesse est en cours chez une cousine germaine et son conjoint, par ailleurs frère du père du cas index.

Lors de cette grossesse, une hyperéchogénicité intestinale isolée est détectée à 22 semaines d'aménorrhée. Les parents ne souhaitent pas aborder leurs antécédents familiaux et la grossesse est menée à terme. A un mois de vie une stagnation de croissance du périmètre céphalique et une hypotonie, associées à des images d'atrophie corticale, d'anomalie diffuse de la myélinisation et de calcifications des noyaux gris centraux à l'IRM, ainsi qu'une cytolysse hépatique et une élévation de l'IFN- $\alpha$  sérique, font suspecter le diagnostic d'AGS qui est confirmé par la biologie moléculaire.

Ces observations montrent que l'AGS est un diagnostic différentiel de l'infection à CMV. En cas de bilan infectieux négatif et d'union entre apparentés, il sera conforté par une élévation de l'IFN- $\alpha$  dans le sang fœtal. La confirmation du diagnostic sera moléculaire par mise en évidence de mutations dans l'un des 6 gènes impliqués.

**Mots-clefs :** Aicardi-Goutières, diagnostic prénatal, interféron

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B059/#551

### Intérêt de la CGH-array dans l'étude des translocations réciproques apparemment équilibrées en prénatal

Laetitia Bronner (1), Arnaud Molin (2), Samia Melaabi (1), Cindy Colson (1), Matthieu Decamp (1), Nicolas Gruchy (1), Nathalie Leporrier (1)

1. Génétique, CHU de Caen, Caen, France  
2. Génétique, CHU de Caen, Caen, France

**Auteur correspondant :** Bronner Laetitia (laetitia.bronner@yahoo.com)

Les translocations réciproques équilibrées (trcp) sont fréquentes dans la population générale (1,4/1000). En diagnostic prénatal, celles-ci sont majoritairement recherchées suite à l'existence d'une translocation équilibrée chez l'un des deux parents, mais un certain nombre de cas sont diagnostiqués fortuitement ou sur signes d'appel échographiques (SAE). Il est important de connaître le caractère hérité ou de novo de ces remaniements. En effet, 6,1 % des porteurs de trcp apparemment équilibrés et de novo peuvent présenter un phénotype anormal (Warburton 1991).

Plusieurs études en CGH-array de trcp à phénotype anormal montrent une fréquence importante de déséquilibres génomiques de 20 à 50 % (Gribble 2005 ; De Gregori 2007 ; Baptista 2009). Ces études décrivent principalement des trcp en période postnatale, donc avec un biais de recrutement. Les déséquilibres génomiques décrits sont retrouvés au niveau ou en dehors de points de cassures de translocation ou sont secondaires à des réarrangements chromosomiques plus complexes. Mais un phénotype anormal peut aussi apparaître suite à l'interruption d'un gène ou d'une région régulatrice lors d'une translocation sans qu'il y ait de déséquilibre. Quelques études de CGH-array en prénatal présentent dans leur série des réarrangements chromosomiques équilibrés avec ou sans SAE associés (De Gregori 2007 ; Wapner 2012 ; Evangelidou 2010 et 2013). Seule l'étude d'Evangelidou de 2010 montre un CNV de signification inconnu parmi 7 trcp de novo. Il semble donc intéressant d'approfondir l'étude des trcp par CGH-array en prénatal.

Depuis janvier 2009 nous avons étudié en prénatal par CGH-array 7 translocations réciproques apparemment équilibrées. 3 étaient de novo, 3 héritées et 1 d'origine inconnue. 6 d'entre elles étaient associées à des SAE : 2 hyperclartés nucales supérieures à 3,5 mm, une cardiopathie complexe gauche, un cas associant hypoplasie des os propre du nez, interposition linguale, foyer hyperéchogène sur un pilier de la valve mitrale et bassinot trop visible, un cas avec un fémur inférieur au 5ème percentile et un cas associant RCIU, microcéphalie et oligoamnios.

Aucun déséquilibre génomique n'a été identifié dans notre série. A l'exception de la grossesse avec la cardiopathie complexe gauche et d'un cas de prématurité, toutes les grossesses ont été menées à terme et les nourrissons se portaient bien à la naissance.

En conclusion, dans notre petite série, l'analyse par CGH-array nous a permis d'améliorer le conseil génétique. En effet, cette technique appliquée à une trcp de novo sans SAE permet de rassurer le couple, éliminant un déséquilibre génomique de petite taille. En présence de SAE, elle peut permettre de détecter des CNV pathogènes pouvant les expliquer. Les études prospectives en prénatal vont pouvoir affiner ces données.

**Mots-clés :** CGH-array, translocations réciproques apparemment équilibrées, prénatal

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B060/#560

### Découvertes fortuites en cours de démarche de diagnostic préimplantatoire : impacts sur le conseil génétique et la prise en charge. A propos de 5 cas.

Claire Kastner (1), Emmanuelle Kieffer (2), Elisabeth Flori (3), Françoise Girard-Lemaire (3), Valérie Kremer (3), Christophe Verny (4), Olivier Pirrello (5), Catherine Rongières (5), Philippe Gosset (6), Céline Moutou (7)

1. Laboratoire de Biologie de la Reproduction - DPI, CMCO - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Schiltigheim, France  
2. Laboratoire de Biologie de la Reproduction - DPI, CMCO - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Université de Strasbourg, Schiltigheim, France  
3. Service de Cytogénétique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France  
4. Centre national de référence pour les maladies neurogénétiques; Service de Neurologie, CHU d'Angers, Angers, France  
5. Service de Gynécologie et Obstétrique, CMCO - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Schiltigheim, France  
6. Laboratoire de Biologie de la Reproduction - DPI, CMCO - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Schiltigheim, France  
7. Laboratoire de Biologie de la Reproduction - DPI, CMCO - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Université de Strasbourg, Schiltigheim, France

**Auteur correspondant :** Kastner Claire (claire.kastner@chru-strasbourg.fr)

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) permet à des couples de ne pas transmettre à leurs descendants la maladie à risque dans la famille. Au cours de cette procédure, il arrive que d'autres pathologies héréditaires graves soient suspectées. Nous présentons ici 5 de ces situations ayant impacté la prise en charge.

1) Couple à risque pour maladie de Huntington, Monsieur est porteur d'un allèle pathologique. Lorsque le statut est connu pour les maladies à expansion de triplets, lors de la mise au point, le conjoint est également testé. L'analyse faite chez Madame a montré la présence d'un allèle pathologique à pénétrance réduite (36 CAG). Ce résultat a eu des conséquences en terme de conseil génétique et diminue les chances de succès du DPI.

2) DPI d'exclusion pour maladie de Huntington diagnostiquée chez le père de Monsieur qui ne voulait pas connaître son statut. L'analyse préliminaire réalisée à partir des prélèvements du couple et des deux parents de Monsieur a montré une incohérence entre les marqueurs microsatellites de Monsieur et de son père, révélant une probable fausse paternité. Il n'y a pas lieu de réaliser un DPI d'exclusion dans cette situation. Monsieur a depuis réalisé le test présymptomatique.

3) DPI pour translocation Robertsonienne des 13 et 21, d'origine féminine, découverte dans le cadre d'un bilan de fausses-couches répétées. Une grossesse spontanée est survenue, le diagnostic prénatal réalisé a montré que le fœtus n'a pas hérité de la translocation. A la naissance, une mucoviscidose est découverte chez l'enfant. Le couple a repris par la suite la démarche de DPI avec double indication.

4) DPI pour réarrangement chromosomique complexe féminin des chromosomes 4, 11 et 6. Les analyses sur lymphocytes de Madame ont montré un troisième signal avec la sonde 11q « maison ». Une insertion vient compliquer le réarrangement connu jusqu'alors. Une grossesse spontanée est survenue et le diagnostic prénatal a retrouvé le réarrangement maternel apparemment équilibré chez le fœtus. Un DPI a été proposé pour ce remaniement à 5 points de cassures.

5) DPI pour translocation réciproque des 11 et 17, d'origine masculine, découverte dans le cadre d'un bilan de fausses-couches répétées. Lors de la consultation Monsieur a évoqué une possible neurofibromatose de type 1 chez lui, sans antécédent connu dans la famille. La maladie n'avait jamais été évoquée lors des consultations de génétique précédentes. Le couple a été renvoyé en conseil génétique et le gène NF1 a été exploré, sans succès. Le couple s'est orienté vers le don de spermatozoïde.

Ces 5 situations montrent combien le conseil génétique et une information complète sur les tests réalisés sont importants pour ces

couples adressés en DPI. Les découvertes fortuites ont des conséquences non négligeables sur leur prise en charge.

**Mots-clefs :** Diagnostic préimplantatoire, Conseil génétique, découvertes fortuites

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

**B061/#580**

### Le diagnostic préimplantatoire du syndrome de l'X fragile : vers un test universel !

Emmanuelle KIEFFER (1), Jean-Christophe NICOD (1), Nathalie GARDES (1), Claire KASTNER (1), Nicolas BECKER (1), Catherine CELEBI (1), Olivier PIRRELLO (2), Catherine RONGIERES (2), Isabelle KOSCINSKI (3), Philippe GOSSET (1), Céline MOUTOU (3)

1. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

2. Gynécologie et Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

3. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** KIEFFER Emmanuelle (emmanuelle.kieffer@chru-strasbourg.fr)

Le syndrome de l'X Fragile (XFra) touche environ 1 individu sur 2500, ce qui en fait la première cause de retard mental d'origine génétique. Il est dû à l'expansion de répétitions CGG instables, situées dans le gène FMR1 en Xq27.3. Un diagnostic préimplantatoire (DPI) peut être proposé aux couples à risque de transmettre la maladie. Nous décrivons ici une solution quasi-universelle pour la prise en charge de ces couples.

L'insuffisance ovarienne prématurée, retrouvée chez environ 20% des patientes prémutées, limite le recueil ovocytaire et, par conséquent, le nombre d'embryons analysables en DPI. Il est donc primordial d'utiliser un test sensible et spécifique pour réduire le taux d'embryons non diagnostiqués.

Pourtant, les conditions techniques pour la réalisation d'un DPI XFra sont difficiles. En effet, l'amplification des répétitions CGG sur cellule unique n'est possible que pour les allèles normaux, limitant l'utilisation du test direct aux couples informatifs pour ce locus. De plus, sur cellule unique, les répétitions riches en GC perturbent la co-amplification d'autres marqueurs. Jusqu'ici, notre stratégie diagnostique consistait à proposer soit un test direct, soit un test indirect multiplex alliant 4 marqueurs connus : DXS998, DXS548, FRAXAC1 et DXS1215 (tous deux associés à un marqueur du chromosome Y). Les limites de cette stratégie étaient que : i) pour le test direct, en cas d'allele drop-out (ADO) sur l'allèle maternel sain, le diagnostic était compromis ; ii) l'informativité des marqueurs microsatellites usuels était souvent faible, parfois nulle.

Nous décrivons un test multiplex indirect sur cellule unique, combinant 5 marqueurs microsatellites non publiés et hautement polymorphiques liés au locus FMR1, le marqueur FRAXAC1, et un marqueur de l'Y. Le haut niveau d'informativité de ce set (sur 37 couples testés : 73% d'informativité partielle ou complète en moyenne contre 53% pour l'ancien set) permet de proposer un test quasiment universel pour les couples non informatifs pour les CGG.

Ainsi, certains couples pour lesquels nous n'avions pas de solution diagnostique peuvent désormais être pris en charge dans notre centre. La fiabilité du diagnostic est augmentée et le taux d'embryons non diagnostiqués est diminué, ce qui augmente les chances de succès du DPI. Ce test a été utilisé, seul ou en parallèle du test direct réalisé sur une autre cellule, pour 6 couples. Au total, 21 embryons ont été analysés et 8 transférés, 4 grossesses ont débuté et deux ont évolué, donnant naissance à deux enfants en bonne santé.

De plus, un test multiplex direct peut dorénavant être proposé aux couples informatifs puisque la co-amplification de 4 de ces nouveaux marqueurs avec les répétitions CGG normales (et un marqueur de l'Y) est désormais possible.

Les nouveaux tests que nous proposons pour les DPI XFra donnent donc la possibilité de réaliser un DPI pour la quasi-totalité des couples qui le sollicitent.

**Mots-clefs :** Syndrome de l'X Fragile, Diagnostic Préimplantatoire, PCR multiplex

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B062/#586

### Epidémiologie, génétique et diagnostic prénatal des troubles de fermeture du tube neural. Etude réalisée à partir du Registre de Malformations Congénitales d'Alsace entre 1995 et 2009

Dana Badila-Timbolschi (1), Elise Schaefer (1), Ben Monga (2), Delphine Fattori (3), Yves Alembik (4), Romain Favre (5), Monique Kohler (5), Israël Nisand (6), Brigitte Viville (6), Dominique Astruc (7), Pierre Kehrlé (8), Bernard Gasser (9), Véronique Lindner (9), Luc Marcellin (10), Elisabeth Flori (3), Françoise Girard-Lemaire (3), Hélène Dollfus (1), Bérénice Doray (11)

1. Laboratoire de Génétique Médicale U1112 et Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Génétique Médicale U1112, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service de Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Département d'échographie, CMCO-SIHCUS, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Service de Pédiatrie II, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Service de Neurochirurgie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
9. Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Général de Mulhouse, Mulhouse, France
10. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
11. Service de Génétique, CHU La Réunion Hôpital Félix Guyon, Saint-Denis, France

**Auteur correspondant :** DORAY Bérénice (berenice.doray@gmail.com)

**Objectifs:** La finalité de cette étude est d'analyser les données cliniques et épidémiologiques des troubles de fermeture du tube neural (TFTN) dans le département du Bas-Rhin (Alsace) et d'évaluer l'efficacité et l'impact du diagnostic prénatal.

**Patients et Méthodes:** Il s'agit d'une étude rétrospective menée en population à partir des données du registre de malformations congénitales d'Alsace entre 1995 et 2009. Les critères d'inclusion sont les suivants : mère du sujet index résidant et ayant accouché dans le département du Bas-Rhin, enfant né vivant porteur d'un TFTN diagnostiqué jusqu'à l'âge de 2 ans, mort fœtale in utero survenue après 22 semaines d'aménorrhée et interruption médicale de grossesse quel que soit le terme.

**Résultats :** 272 TFTN sont recensés (prévalence totale de 14 pour 10 000 naissances. Cette prévalence est globalement stable au cours de la période étudiée (14,5 pour 10 000 naissances entre 1995 et 1999 à 14,6 pour 10 000 entre 2000 et 2004 puis 13,3 pour 10 000 entre 2005 et 2009, diminution non statistiquement significative). Ces 272 cas se répartissent en 113 cas d'anencéphalie (41%), 35 cas de céphalocèle (13%) et 124 cas de spina bifida (46%). Le TFTN est isolé dans 77% (87/113) des anencéphalies, 37% (13/35) des céphalocèles et 40% (49/124) des spina bifida. Une anomalie chromosomique est identifiée dans 10% des anencéphalies, 0% des céphalocèles et 18% des spina bifida. Seules les céphalocèles sont volontiers associées à un syndrome monogénique, dominé par le syndrome de Meckel (6 cas) tandis que les autres TFTN associés s'intègrent plutôt dans un tableau de cétosomie ou de séquence de brides amniotiques.

Le taux de diagnostic prénatal (DPN) est de 99% (112/113) pour les anencéphalies, 74% (26/35) pour les céphalocèles et 81% (100/124) pour les spina bifida. En cas de diagnostic prénatal, le taux de recours à l'interruption médicale de grossesse (IMG) est respectivement de 97%, 92% et 97%.

**Conclusion :** Cette étude démontre une prévalence stable des TFTN au cours des 15 ans étudiés, ce qui interroge sur l'efficacité de la prévention primaire par acide folique en France. Le taux de DPN

s'inscrit dans les valeurs élevées parmi celles fournies par la littérature. Néanmoins, avec l'abandon progressif du dosage d'alphafœtoprotéine compte tenu du transfert du dépistage chromosomique du deuxième au premier trimestre depuis 2009, il sera intéressant d'en analyser l'impact sur le DPN des TFTN.

Enfin, il conviendra d'étudier l'évolution du taux d'IMG des spina bifida compte tenu du développement actuel de la chirurgie fœtale, laquelle pourrait s'inscrire à court terme, comme une alternative thérapeutique intéressante.

**Mots-clés :** Trouble de fermeture du tube neural, Epidémiologie, Diagnostic Prénatal



## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B063/#621

### Epidémiologie, clinique, génétique et prévention des malformations congénitales. Registre des malformations congénitales d'Alsace 1995-2009

Dana Badila-Timbolschi (1), Elise Schaefer (1), Ben Monga (2), Delphine Fattori (3), Yves Alembik (4), Romain Favre (5), Monique Kohler (5), Israël Nisand (6), Brigitte Viville (6), Dominique Astruc (7), Bernard Gasser (8), Véronique Lindner (8), Luc Marcellin (9), Elisabeth Flori (3), Françoise Girard-Lemaire (3), Hélène Dollfus (1), Bérénice Doray (10)

1. Laboratoire de Génétique Médicale U1112 et Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Génétique Médicale U1112, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service de Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Département d'échographie, CMCO-SIHCUS, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Service de Pédiatrie II, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Général de Mulhouse, Mulhouse, France
9. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Service de Génétique, CHU La Réunion Hôpital Félix Guyon, Saint-Denis, France

**Auteur correspondant :** DORAY Bérénice (berenice.doray@gmail.com)

Le Registre de malformations congénitales d'Alsace constitue l'un des cinq registres de malformations congénitales de France métropolitaine. Membre du réseau européen EUROCAT, il génère un enregistrement continu et exhaustif des malformations congénitales parmi les 23 000 naissances annuelles recensées dans les deux départements d'Alsace. Ses objectifs s'inscrivent dans une triple démarche clinique, épidémiologique et de santé publique.

Notre étude s'est intéressée au seul département du Bas-Rhin pour la période 1995-2009. La prévalence totale des malformations est de 3,6% de l'ensemble des naissances. Les 6845 cas enregistrés se répartissent en 80% de NV, 19% d'IMG et 1% de MFUI. Les malformations les plus fréquentes concernent le cœur (26%), les membres et extrémités (17%), les reins (15%) et l'appareil génital (8%). La malformation est isolée dans 68% des cas, non isolée (c'est-à-dire associée à une ou plusieurs autres malformations d'un autre appareil, voire syndromique) dans 32% des cas, avec dans cette situation 13% d'anomalies chromosomiques, 5% de syndromes génétiques et 1% de syndromes tératogènes.

L'on assiste à une augmentation du taux de diagnostic prénatal (DPN), passant de 26% en 1995 à 47% en 2009 avec une diminution de l'âge moyen du DPN de 22,2 SA à 20,9 SA. Le diagnostic, quand il est postnatal, est également plus précoce, dès la naissance dans 40% des cas en 1995 et dans 70 % des cas en 2009 (traduisant une prise en charge pédiatrique plus ciblée, possiblement orientée par la surveillance prénatale).

Le pourcentage de prélèvements fœtaux est assez stable avec une moyenne de 30,5% d'actes réalisés. Par contre, le type de prélèvements évolue avec un accroissement régulier des prélèvements de trophoblaste (de 11% en 1995 à 47% en 2009) aux dépens de l'amniocentèse (de 62% à 41%).

Le taux moyen d'IMG sur l'ensemble de la période est de 19%, mais parallèlement à l'accroissement du diagnostic prénatal, passe de 13% en 1995 à 20% en 2009. Si le taux global d'examen foetopathologique réalisé après IMG est de 73%, l'on assiste à une chute de la pratique de cet examen à partir de 2005. Actuellement une autopsie est réalisée dans moins de 50% des cas, traduisant une évolution des

pratiques médicales mais aussi des couples, plus souvent enclins à refuser cet examen.

Au total, la période 1995-2009 a connu un développement majeur de la médecine fœtale, marqué par des progrès en termes d'imagerie, de biologie (biochimie fœtale et génétique), ceci dans un nouveau cadre législatif dominé par l'instauration des centres multidisciplinaires de diagnostic prénatal et la diffusion des programmes nationaux de dépistage chromosomique. Notre étude constitue une photographie précise de cette période, et nos résultats pourront servir de référence avant l'instauration d'une nouvelle ère du diagnostic prénatal, marquée notamment par le développement du diagnostic prénatal non invasif et les nouvelles techniques d'exploration du génome.

**Mots-clés :** Registre, Malformations Congénitales, Diagnostic Prénatal

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B064/#637

### Syndrome de Marfan : mosaïcisme germinomique et DPI

Aurélien Plancke (1), Nicolas Chassaing (2), Anne Girardet (3), Marjolaine Willems (4), Thomas Edouard (5), Laetitia Monteil (2), Jean Chiesa (1), Philippe Khau Van Kien (1)

1. Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
2. Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, Montpellier, France
4. Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Centre de Compétence "Marfan et syndromes apparentés", CHU de Toulouse, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Khau Van Kien Philippe (philippe.khauvankien@chu-nimes.fr)

Nous rapportons ici, le cas d'une patiente atteinte d'un syndrome de Marfan (atteinte cardio-vasculaire et squelettique) avec un projet de grossesse par DPI avant chirurgie aortique programmée. Il s'agit d'un cas sporadique au sein d'une famille sans antécédent notable par ailleurs, ce qui exclut habituellement chez une femme, le moyen de disposer d'une technique indirecte, nécessaire pour fiabiliser le DPI.

L'étude moléculaire révèle la présence d'une mutation non-sens dans le gène FBN1 sur l'ADN leucocytaire de la patiente. La recherche de la mutation à partir du prélèvement des parents met en évidence par différentes techniques et de manière reproductible, la présence de la mutation à taux faible dans l'ADN de la mère.

Sur le plan clinique, celle-ci est asymptomatique. Elle a bénéficié d'une évaluation ciblée (notamment échocardiographie et examen ophtalmologique) avec un score diagnostique négatif en dehors d'une dolichosténomélie (envergure : 179cm / taille : 170cm > 1,05) et d'un pectus excavatum modéré.

D'autres prélèvements (sang, frottis jugal) sont réalisés chez les parents. La présence de la mutation est confirmée uniquement sur les prélèvements de la mère avec un taux estimé à environ 10%. Ces données sont en faveur d'un mosaïcisme germinomique maternel, permettant un diagnostic indirect et d'envisager une procédure de DPI chez la patiente sous réserve de l'évolution de sa dilatation aortique. Par ailleurs, une surveillance échocardiographique est mise en place chez sa mère.

Cette situation à notre connaissance non rapportée à ce jour dans le cadre du syndrome de Marfan illustre l'intérêt de l'étude du prélèvement des parents chaque fois que cela est possible même lorsque ceux-ci sont à priori « asymptomatiques ».

**Mots-clés :** Syndrome de Marfan, mosaïcisme germinomique, DPI

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B065/#639

### Diagnostic prénatal d'une duplication-délétion du chromosome 3 résultant d'une aneusomie de recombinaison d'une inversion péricentrique

Narjes Armanet (1), Alexandra Benachi (2), Claire Borie (3), Sophie Brisset (3), Valérie Gautier (1), Jelena Martinovic (4), Corinne Metay (5), Valérie Ortonne (5), Julien Saada (2), Gérard Tachdjian (1), Lucie Tosca (1)

1. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France
3. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France
4. Unité de Fœtopathologie, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France
5. Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

**Auteur correspondant :** Armanet Narjes (narjes.guediche@yahoo.fr)

L'incidence des inversions péricentriques dans la population générale est estimée à 0.01-0.02%. La duplication 3q-délétion 3p du chromosome 3 est une anomalie très rare causée par un nombre impair d'échanges interchromosomiques survenant dans la boucle de l'inversion du chromosome 3 au moment de la méiose. Nous présentons la caractérisation par CGH array d'une aneusomie de recombinaison du chromosome 3 en rapport avec une inversion péricentrique paternelle.

Une étude cytogénétique a été réalisée sur des cellules trophoblastiques chez un fœtus d'un couple âgé de 29 ans adressé pour un hygroma kystique (5,9mm) observé à l'échographie du 1er trimestre. Un remaniement déséquilibré du chromosome 3 chez le fœtus a été observé et une interruption médicale de grossesse a été réalisée. L'examen fœtopathologique a mis en évidence une dysmorphie, des anomalies des membres et une hypotrophie surrénalienne. Les techniques de cytogénétique conventionnelle sur cellules du trophoblaste à 12SA+3j ont mis en évidence un caryotype masculin avec la présence d'un chromosome 3 d'aspect remanié comportant du matériel excédentaire sur le bras court. Le caryotype de la mère était normal. Le caryotype du père a montré une formule chromosomique masculine avec une inversion péricentrique équilibrée d'un chromosome 3 homogène dans toutes les cellules (46,XY,inv(3)(q21;p25)). La CGH array (Agilent 180K) réalisée à partir de cellules trophoblastiques cultivées a précisé qu'il s'agissait d'une duplication de 63 Mb pour la région 3q22.2q29 contenant 502 gènes et 17 miRNA et d'une délétion de 6,4 Mb pour la région 3p26.3p26.1 contenant 28 gènes et 1 miRNA. Ces déséquilibres chromosomiques ont confirmé l'aneusomie de recombinaison observée en cytogénétique conventionnelle qui est liée à l'inversion paternelle.

Les patients porteurs d'une duplication 3q-délétion 3p ont une trisomie partielle pour pratiquement la moitié du bras long du chromosome 3 (q21→qter) et une monosomie pour le segment p25→pter. Les précédents cas rapportés ont soit une issue fatale au stade embryonnaire, soit un tableau très lourd avec un retard de croissance et de maturation osseuse, une microcéphalie et de multiples malformations généralement viables. Un patient présentant une plus petite délétion ne contenant que 2 gènes a été décrit avec un retard psychomoteur modéré. L'évènement réciproque (duplication 3p-délétion 3q) n'a été observé chez aucun enfant né vivant à ce jour.

Dans notre cas, la délétion emportait, entre autres, les gènes CRBN, CNTN6, CNTN4 et CHL1 impliqués dans le retard mental et STQTL5 dans le retard de croissance. Par ailleurs, les gènes CNTN4, ITPR1, LRRN1 et SUMF1 ont été précédemment décrits comme étant corrélés au syndrome 3p-. Leur délétion chez le fœtus expliquerait le phénotype observé. Parmi les nombreux gènes compris dans la duplication 3q, aucun n'a à ce jour été directement corrélé à une des anomalies ici décrites.

**Mots-clefs :** CGH array, Chromosome 3, Inversion péricentrique

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B066/#645

### Diagnostic prénatal de l'anémie de Fanconi en Tunisie

Faten TALMOUDI (1), Wiem AYED (1), Mariem BEN REKAYA (2), Olfa KILANI (1), Olfa MESSAOUD (2), Nabila ABIDLI (1), Sofien HENTATI (1), Sonia ABDELHAK (2), Ahlem AMOURI (3)

1. Histologie et Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Génomique Biomédicale et d'Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Histologie et Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** AMOURI Ahlem (amouriahlem@yahoo.fr)

L'anémie de Fanconi (AF) est une maladie génétique rare à transmission autosomique récessive dans la majorité des cas. Elle se manifeste par une aplasie médullaire d'installation progressive, une pancytopenie, des malformations congénitales et une prédisposition aux cancers. Elle est caractérisée par une hypersensibilité cellulaire et chromosomique aux agents pontant l'ADN tels que le diepoxybutane (DEB) et mitomycine C (MMC). A ce jour, 16 gènes ont été identifiés dont la mutation affecte les mécanismes de la réparation de l'ADN et d'une instabilité chromosomique. Notre équipe a pu démontrer que c'est le gène FANCA qui est majoritairement en cause des cas d'Anémie de Fanconi dans la population Tunisienne.

Nous rapportons dans ce travail l'apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic prénatal de l'AF en Tunisie.

Le cas index était une petite fille âgée de 8 ans, adressée au Laboratoire de Cytogénétique Médicale à l'Institut Pasteur de Tunis pour exploration d'une aplasie médullaire. Le test d'instabilité chromosomique à la MMC (50ng/ml) et l'enquête génétique a confirmé le diagnostic d'AF chez la fillette ainsi que sa jeune sœur.

La mère était demandeuse d'un diagnostic prénatal pour sa 4ème grossesse évolutive. Le génotypage a été réalisé chez les parents, les enfants vivants et le fœtus en utilisant 4 marqueurs microsatellites entourant le gène FANCA. L'exploration a été complétée par MLPA confirmant les données du génotypage. Le fœtus était homozygote sain pour la mutation du gène FANCA.

Il s'agit du premier diagnostic prénatal moléculaire de l'AF en Tunisie. L'identification de cette mutation en rapport avec un effet fondateur ouvre le champ à une méthode rapide de diagnostic pré et post natal de cette affection dans notre pays.

**Mots-clefs :** Anémie de Fanconi, FANCA, Diagnostic prénatal

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B067/#675

### Prenatal BoBs™ : effet d'une contamination maternelle sur la détection de déséquilibres chromosomiques

Laetitia GOUAS (1), Stéphan KEMENY (2), Camille LEMATTRE (2), Céline Pebrel-Richard (2), Carole Goumy (2), Eleonore Eymard-Pierre (2), Michel Giollant (2), Nathalie Bonnet (2), Aurélie Monnier (2), Hélène Laurichesse (3), Philippe Vago (2)

1. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
2. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
3. Gynécologie Obstétrique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** Gouas Laetitia (lgouas@chu-clermontferrand.fr)

**Introduction :** La technologie BACs-on-Beads™ (BoBs) consiste en l'hybridation de l'ADN d'échantillons patients et de contrôles négatifs sur des sondes d'ADN BAC couplées à des billes de polystyrène identifiables par un cytomètre Luminex. L'analyse « Prenatal BoBs » permet de rechercher des pertes ou des gains en matériel génomique pour les chromosomes 13, 18, 21, X et Y et de neuf régions impliquées dans des microremaniements syndromiques. Cette analyse trouve sa place en première intention dans le diagnostic prénatal chromosomique et permet d'analyser l'ADN extrait des échantillons avant culture (villosités choriales, liquide amniotique). La recherche de contamination maternelle (CM) n'étant pas réalisée de façon systématique avant culture, l'impact d'une CM sur la détection des anomalies par les approches moléculaires de la cytogénétique n'est pas connue. A ce jour, une seule étude a testé l'effet d'une contamination de l'ADN fœtal par de l'ADN maternel sur la détection d'une trisomie 21 par Prénatal BoBs (Vialard et al (2011)).

**Objectif :** Evaluer le seuil de détection des aneuploïdies et de microremaniements du « Prenatal Bobs » en présence d'une contamination maternelle.

**Matériels et méthodes :** Des ADN fœtaux (XX ou XY) porteurs d'une trisomie 21 (5 sondes, 12 Mb explorées), d'une monosomie X (5 sondes, 140 Mb), d'une duplication 7q11 (5 sondes, 1 Mb) ou d'une délétion 22q11 (4 sondes, 564 Kb) ont été artificiellement contaminés par de l'ADN féminin normal en différentes proportions (5% à 50%). L'intensité de fluorescence des différentes sondes a été comparée à celle obtenue pour 5 ADN références XX (ou 5 ADN références XY) avec l'analyse « artificielle ».

**Résultats :** Une trisomie 21 est suspectée jusqu'à 40% de CM et devient indécélable à 50% de CM. Une monosomie X est mise en évidence jusqu'à 30% de CM et un profil compatible avec un mosaïcisme 45,X/46,XX est observé jusqu'à 50% de CM.

Pour une amplification 7q11 ou une délétion 22q11, dès 10% de CM les ratios de fluorescence se rapprochent du seuil de normalité et l'anomalie peut être suspectée jusqu'à 40% et 20% de CM, respectivement. A partir de 30% de CM, la délétion 22q11 n'est plus détectable. Par ailleurs, lorsque l'ADN fœtal est XY, une CM est suspectable à partir de 20% de mosaïcisme XY/XX.

**Conclusion :** Ces résultats montrent que le taux de CM à partir duquel une anomalie n'est plus détectée est différent en fonction de la région chromosomique explorée et que certains microremaniements pourraient être masqués dès 30% de CM. Ces résultats Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux de Vialard et al (2011) qui montrent qu'une trisomie 21 reste détectable avec une CM de 80%. Des études complémentaires sont donc nécessaires pour affiner ces résultats.

**Mots-clefs :** Prénatal BoBs, Contamination maternelle, Déséquilibre chromosomique

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B068/#764

### Evaluation du dépistage néonatal de la drépanocytose

Khaoula Razgallah (1), Awatef Mejri (2), Maroua Mansri (2), Hajer SIALA (3), Amina Bibi (4), Taieb Messaoud (5)

1. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, ,, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie
2. 1 Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, ,, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Laboratoire de Biochimie Clinique, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Servie de Biochimie Clinique, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunis, Tunisie
5. \*Laboratoire de Biochimie Clinique, –Hôpital d'Enfant Béchir Hamza Tunis, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Siala Hajer (hajer.siala@rns.tn)

La drépanocytose est une maladie génétique à transmission autosomique récessive dominée par une anémie sévère, des crises douloureuses et une grande susceptibilité aux infections bactériennes. La prise en charge précoce du drépanocytose est le meilleur moyen de minimiser sa sévérité clinique et ceci passe essentiellement par le dépistage néonatal.

Dans le cadre d'un projet de recherche, le dépistage néonatal de la drépanocytose a été entamé depuis Février 2005 dans le Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire à l'Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis en collaboration avec le Centre de Maternité et de Néonatalogie La Rabta et la maternité de l'Hôpital Aziza Othmana. Huit ans après sa mise en place, nous tentons ici d'évaluer la technique utilisée pour détecter cette hémoglobinopathie et révéler les conditions optimales qui permettent de dépister 100 % des cas.

Ce travail a été mené sur 214 nouveau-nés issus du centre de maternité et de néonatalogie, la Rabta. Deux types de prélèvements ont été effectués pour chaque sujet : le sang du cordon à la naissance et une goutte au talon sur papier GHUTRIE au 3ème jour de vie. Cette dernière a été utilisée dans l'étude par isoélectrofocalisation(IEF) alors que le sang du cordon a servi à la séparation et la quantification des différentes hémoglobines par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et après l'extraction d'ADN, la recherche de la mutation drépanocytose par analyse de restriction a été faite par PCR/RFLP.

L'HPLC a révélé 9 anomalies parmi les 214 échantillons testés dont 7 porteurs d'Hb S (AS) soit 3.3%, un drépanocytose homozygote (SS) et un porteur d'Hb C (AC) soit 0.46%, alors que l'IEF n'a révélé que 5 sujets porteurs d'hémoglobinopathies dont 3 porteurs d'Hb S soit 1.4 %, un drépanocytose homozygote S/S et un sujet porteur d'Hb C. le résultat obtenu par HPLC est confirmé par la méthode moléculaire où le même nombre d'anomalies a été révélé.

L'IEF pourrait être moins efficace que l'HPLC, en effet on y perd 1.9% de l'information surtout pour les hétérozygotes, toutefois le coût élevé des réactifs de l'HPLC et de la PCR/RFLP, nous permet peut être de tolérer cette perte d'information.

**Mots-clefs :** dépistage néonatal, drépanocytose, évaluation

## Diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire

B069/#770

### Détermination du génotype RHD fœtal dans le sang maternel par PCR digitale

Lucie Orhant (1), Aurélie Vasson (1), Aurélie Toussaint (1), Camille Rampan (2), Olivia Anselem (2), Marc Delpech (1), Michel Vidaud (1,3), France Leturcq (1,4), Juliette Nectoux (1,5)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, HUPC Hôpital Cochin, Paris, France
2. Maternité Cochin-Port Royal, HUPC Hôpital Cochin, Paris, France
3. UMR\_S745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. Institut de Myologie UPMC UMR76 Inserm U974 Cnrs UMR7215, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France

**Auteur correspondant :** nectoux.juliette (juliette.nectoux@cch.aphp.fr)

Le système Rhésus est à l'origine de la majorité des allo immunisations foeto-maternelles. Celles-ci sont caractérisées par la production d'anticorps maternels dirigés contre les hématies fœtales et peuvent être à l'origine d'anémies fœtales et néonatales sévères ainsi que d'ictères néonataux graves. Le risque d'allo immunisation existe si le fœtus est RH:1 (D positif) et la mère RH:-1 (D négatif). Actuellement, toute femme enceinte RH:-1, non immunisée contre l'antigène RH1, se voit proposer de manière systématique une injection d'immunoglobulines anti-RH1 au terme de 28 SA. Étant donné que 30 % à 40 % des femmes de phénotype RH:-1 sont à l'abri de l'immunisation puisqu'enceintes de fœtus RH:-1, la connaissance du statut RH1 du fœtus permet de cibler les grossesses nécessitant une prise en charge spécifique.

C'est pourquoi nous avons développé une stratégie diagnostique par PCR digitale permettant la détermination du statut RH1 fœtal à partir de sang maternel. Ce test « maison » s'appuie sur l'amplification des exons 4, 5, 7 et 10 du gène RHD, ainsi que sur l'évaluation de la proportion d'ADN fœtal dans le plasma maternel. L'étude de l'efficacité diagnostique de cette approche de PCR digitale a concerné 27 patientes de statut RH :-1 devant subir un geste invasif en vue de la réalisation d'un diagnostic prénatal. Le statut RHD fœtal déterminé à partir du sang maternel correspondait à celui déterminé à partir de matériel génétique d'origine fœtale pure dans 100% des cas, même dans les cas où la proportion d'ADN fœtal dans le plasma maternel était très faible. Dans la majorité des cas, les résultats de l'analyse peuvent être rendus en moins de 72h. La sensibilité et la spécificité de notre protocole de PCR digitale appliqué à la détermination du génotype RHD fœtale permet donc une gestion satisfaisante des grossesses chez les patientes de statut RH :-1, et ouvre la voie aux applications de cette technologie innovante dans le diagnostic prénatal non invasif des maladies monogéniques qui nécessitent une quantification précise du ratio allélique et de la proportion d'ADN fœtal dans le sang maternel.

**Mots-clés :** diagnostic prénatal non invasif, rhesus D, PCR digitale

## Oncogénétique

B070/#34

### Analyse comparative du profil génétique des glioblastomes : adultes versus jeunes adultes

Saoussen Trabelsi (1), Dorra H'mida-Ben Brahim (2), Maroua Chourabi (3), Mohamed L'Adib (4), Sihem Sassi (3), Maroua Haddaji Mastouri (5), Nadia Mama (6), Moncef Mokni (7), Hedi Krifa (4), Kalthoum Tlili (8), Mohamed Taher Yacoubi (7), Ali Saad (9)

1. Laboratoire de Cytogénétique de Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, SOUSSE, Tunisie
2. Laboratoire de Cytogénétique de Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, SOUSSE, Tunisie
3. Laboratoire de Cytogénétique de Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, SOUSSE, Tunisie
4. Service de Neurochirurgie, CHU Sahloul, SOUSSE, Tunisie
5. Laboratoire de Cytogénétique de Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, SOUSSE, Tunisie
6. Service d'Imagerie Médicale, CHU Sahloul, SOUSSE, Tunisie
7. Laboratoire de Cytopathologie, CHU Farhat HACHED, SOUSSE, Tunisie
8. Service d'Imagerie Médicale, CHU Sahloul, SOUSSE, Tunisie
9. Laboratoire de Cytogénétique de Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, SOUSSE, Tunisie

**Auteur correspondant :** Trabelsi Saoussen (tsaoussen@yahoo.fr)

**Introduction :** Les glioblastomes sont des tumeurs astrocytaires classées par l'OMS (2007) dans la forme la plus maligne des gliomes. L'âge de découverte a souvent été rapporté dans une tranche d'âge de plus de 55 ans. Cependant, un âge de survenue plus jeune est de plus en plus incriminé, constituant ainsi un nouveau sous groupe : « les glioblastomes du jeune adulte » (< 40ans). En dépit de leurs diagnostics anatomopathologiques semblables, les deux sous groupes de glioblastomes présentent des altérations moléculaires discriminatives et semblent ainsi sous-tendus par des voies de tumorigénèse distinctes.

**Objectif :** Notre travail vise à comparer les profils génétiques de deux sous groupes de glioblastomes : adulte et jeune adulte.

**Matériel et Méthodes :** Au cours de ce travail nous avons entrepris une étude transversale chez 40 patients ayant été opérés pour des glioblastomes durant la période allant de 2009 à 2013. 43 Glioblastomes dont 30 adultes et 13 adultes jeunes ; ont été analysés moyennant la technique MLPA ( Multiplexe Ligation Probe Amplification) à la recherche d'altérations chromosomiques et génétiques discriminatives et âge dépendantes.

**Résultats :** Notre analyse a révélé des similitudes entre les deux sous groupes en termes de localisation, de taille tumorale ainsi que pour les altérations génétiques au niveau des régions chromosomiques : 10q, 17q et 19q. Nous avons en revanche noté que la co-délétion 1p19q, la délétion 1p ainsi que la délétion du gène CDKN2A (p14) n'ont concernés que le sous groupe des tumeurs de l'adulte. Les mutations du gène IDH1 se sont quant à elles révélées plus fréquente chez les jeunes adultes.

**Conclusion :** Nos résultats confortent l'hypothèse de voies de tumorigénèse âge dépendante. Le diagnostic clinique et anatomopathologique est certes un élément clé dans la prise en charge des glioblastomes, cependant une investigation moléculaire pourrait contribuer à une meilleure compréhension des voies de tumorigénèse des glioblastomes, et avoir ainsi un apport diagnostique, pronostique et prédictif.

**Mots-clés :** Glioblastome, Profil Génétique, Adulte jeune



## Oncogénétique

B071/#41

### Absence d'association entre le polymorphisme C3435T du gène MDR1 et le risque de survenue de la leucémie myéloïde chronique

Samia Dorgham (1), Meriem Aberkane (2), Wefa Boughrara (1), Abdallah Boudjema (1), Lotfi Louhibi (1)

1.Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran- Mohamed Boudiaf (USTO-MB), Oran, Algérie

2.Service de Biologie Moléculaire et Cytogénétique, Etablissement Hospitalier Universitaire d'Oran, Oran, Algérie

**Auteur correspondant :** DORGHAM SAMIA (dorghsam@gmail.com)

MDR1 (multidrug resistance) code pour une protéine active transmembranaire qui régule l'efflux cellulaire pour une variété de toxines environnementales et de xénobiotiques, de nombreuses études ont évalué son association avec le risque de cancer. La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un trouble myéloprolifératif, bien que les aspects cliniques et biologiques sont bien documentés, on en sait peu sur la susceptibilité individuelle à cette maladie. De nombreuses études ont été rapportées concernant la MDR1 et la réponse au traitement de la LMC, mais seulement quelques-unes ont été citées sur sa relation avec le risque de survenue de la LMC. Par une étude cas-témoins, nous avons analysé la prévalence du polymorphisme C3435T chez des patients Algériens atteints de LMC. Utilisant TaqMan ® test de discrimination allélique, nous étudions la distribution du polymorphisme C3435T du gène MDR1 chez 85 cas de LMC et 100 sujets sains, tous originaires d'Algérie. Les résultats ont démontré aucune différence statistique dans la distribution des fréquences du polymorphisme C3435T du gène MDR1 entre le groupe des patients et le groupe des témoins. Cela suggère que les variants C3435T du gène MDR1 n'ont pas d'influence significative sur le risque de survenue de la LMC dans la population Algérienne.

**Mots-clés :** MDR1, LMC, Algérie

## Oncogénétique

B072/#68

### Groupe d'échange et de parole pour les femmes prédisposées aux cancers du sein et de l'ovaire

Caroline KIENTZ-BUSSY, Isabelle LAYES, Fabienne PRIEUR, Marine LEBRUN, Renaud-Laurian TOURAINE  
Service de Génétique, Hôpital Nord, SAINT ETIENNE, France

**Auteur correspondant :** KIENTZ-BUSSY Caroline (caroline.kientz@chu-st-etienne.fr)

Lorsqu'une patiente est identifiée comme porteuse d'une prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire, liée aux gènes BRCA1 et BRCA2, un suivi médical et psychologique est proposé.

A l'issue de ces entretiens, plusieurs problématiques ont été identifiées : Peur du cancer, culpabilité de la transmission, sentiment de solitude, information des apparentés,... Ceci nous a amené à mettre en place un groupe de parole pour ces patientes.

Sur 76 patientes contactées, 15 ont été très désireuses de participer activement à ces réunions. Deux groupes ont vu le jour, afin de privilégier la qualité des échanges. Le premier avait une moyenne d'âge de 63 ans, le second de 39 ans.

Les réunions sont co-animées par la psychologue et la conseillère en génétique. Le rôle de la psychologue est d'orienter la discussion afin que chacune s'exprime librement et en confiance, tandis que le rôle de la conseillère en génétique est d'apporter des précisions médicales et génétiques.

Un thème était proposé à chaque début de réunion afin de lancer la discussion mais l'évolution des échanges restait libre.

Un questionnaire a été remis aux patientes à l'issue de cette première année de réunions afin de savoir ce qu'elles leur avaient apporté. Leur retour a été très positif, avec un réel apport personnel. D'un point de vue social, psychologique ou médical, chacune d'entre elle a puisé apaisement et réassurance.

Si les réunions n'ont pas eu d'impact sur leur suivi médical, cela leur a permis de conforter leurs décisions chirurgicales (mastectomie et/ou ovariectomie) et même, pour certaines, de se décider à être opérées. Elles ont été grandement soulagées de voir que certaines séquelles de leur maladie et des traitements (fatigue, apathie,...) étaient ressenties par un grand nombre d'entre elles.

D'un point de vue psychologique, nous avons pu voir la culpabilité, très présente chez certaines patientes, diminuer pour laisser place à un peu plus de sérénité. Elles ont toutes trouvé du réconfort dans les échanges, même si cela en a replongé plus d'une dans le passé de la maladie. Toutes nous ont dit se sentir beaucoup moins seules grâce à ces réunions. Aucune n'a exprimé d'angoisse particulière suite à ces échanges.

Elles ont toutes plébiscité ces échanges et ont souhaité que ces réunions continuent.

**Mots-clés :** Groupe de parole, BRCA1 BRCA2, SEIN OVAIRE

## Oncogénétique

B073/#86

### Analyse moléculaire d'une famille algérienne de NEM2A.

Ammar Chikouche (1), Leila Ahmed-Ali (2), Nora Soumeiya Fedala (2), Farida Chentli (2), Abir Talbi (1), Asma Kassoul (1), Mohamed Amine Himeur (1), Kahina Sbahi (1), Fériel Oukrine (1), Naziha Zeraoulia (1), Mériem Aouaitia (1), Belaid Ait Abdelkader (1), Malika Ait Abdallah (1) et Lakhdar Griene (1).

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université Alger 1, Algérie  
2. Service d'Endocrinologie, CHU Bab El Oued, Alger, Algérie.

**Auteur correspondant :** CHIKOUCHE Ammar (chikoucheam2002@yahoo.fr)

#### Introduction

La NEM2A, qui se caractérise par l'association d'un cancer médullaire de la thyroïde (CMT) à un phéochromocytome et/ou une hyperparathyroïdie, fait partie avec la NEM2B et le CMTF des Néoplasies Endocriniennes Multiples de type 2 (ou NEM2). Ces NEM2 constituent des affections héréditaires rares, de transmission autosomique dominante dues à des mutations du proto-oncogène RET.

La recherche de mutations du proto-oncogène RET chez un cas index NEM2A permet d'une part de conforter le diagnostic clinique et d'autre part d'identifier précocement par dépistage génétique, parmi les apparentés du cas index, ceux qui sont porteurs de l'anomalie génétique, avant toute manifestation biologique ou clinique, pour une meilleure prise en charge.

#### Les objectifs:

Caractériser la mutation ponctuelle du proto-oncogène RET chez les cas index ;

Dépister chez les apparentés des cas index, les porteurs de la mutation du proto-oncogène RET.

#### Matériels et méthodes

Dans ce travail, nous avons mis au point les techniques de diagnostic génotypique par PCR/séquençage des 7 exons du proto-oncogène RET (8, 10, 11, 13, 14, 15, 16) les plus fréquemment affectés.

L'étude a été réalisée chez une femme avec CMT et phéochromocytome bilatéral (NEM2A).

La mutation retrouvée chez le cas index, a été recherchée chez les apparentés, 2 soeurs adultes présentant chacune un CMT et 07 enfants apparemment sains.

#### Résultats

La mutation identifiée chez le cas index (C634Y / exon 11) est retrouvée chez les 02 apparentés cliniquement atteints, ainsi que chez 04 des 07 enfants cliniquement sains.

#### Conclusion

Cette mutation C634Y, commune au CMT et à la NEM2A, nous oblige à considérer les cas de CMT présentant cette mutation comme des NEM2A potentiels et de leur assurer une surveillance clinique et biologique identique. Une thyroïdectomie prophylactique sera proposée aux porteurs sains.

**Mots-clefs :** NEM2A, Proto-oncogène RET, Mutation

## Oncogénétique

B074/#87

### Etude génétique d'une famille Algérienne de CMTF

Ammar CHIKOUCHE (1), Mebarek BOUDISSA (2), Belaid AIT ABDELKADER (1), Malika AIT ABDALLAH (1), Abir TALBI (1), Asma KASSOUL (1), Mohamed Amine HIMEUR (1), Mériem AOUAITIA (1), Fériel OUKRINE (1), Kahina SBAHI (1), Naziha ZERAOULIA (1), Lakhdar GRIENE (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université Alger 1, Alger, Algérie  
2. Service d'Endocrinologie, CPMC, Alger, Algérie

**Auteur correspondant :** CHIKOUCHE Ammar (chikoucheam2002@yahoo.fr)

#### Introduction

Le cancer médullaire de la thyroïde ou CMT se présente sous forme sporadique (75% des cas) et sous forme familiale (25% des cas) qui, dans cette dernière situation, fait partie des Néoplasies Endocriniennes Multiples de type 2 (ou NEM2).

Les NEM2 se subdivisent en NEM2A, NEM2B et CMTF ou CMT familial isolé.

Les NEM2 sont des affections héréditaires rares, transmises selon le mode autosomique dominant, liées à des mutations du gène RET.

La découverte d'une mutation du proto-oncogène RET chez un cas index de CMT conforte le diagnostic de forme familiale et permet le dépistage génétique des apparentés cliniquement sains du cas index : ceux qui portent l'anomalie génétique, avant toute manifestation biologique ou clinique, se verront proposer une thyroïdectomie prophylactique.

#### Les objectifs

- Rechercher par des techniques de biologie moléculaire, chez le patient avec cancer médullaire de la thyroïde, une mutation du gène RET,

- Assurer le dépistage génétique des apparentés.

#### Matériels et méthodes

L'étude a porté sur un patient de 49 ans qui présente un CMT isolé.

La recherche de mutation du proto-oncogène RET, a été réalisée au niveau des exons 8, 10, 11, 13, 14, 15 et 16 par PCR/séquençage.

La mutation retrouvée chez le cas index, a été recherchée chez ses 07 enfants, apparemment sains.

#### Résultats

La mutation E768D (GAG/GAC // exon 13), retrouvée sous forme hétérozygote chez le cas index, a été identifiée chez 02 enfants parmi les 07.

#### Conclusion

Cette mutation, déjà décrite, retrouvée uniquement dans le CMTF, dispense les porteurs d'une surveillance des glandes parathyroïdes et médullo-surrénales.

Les 02 enfants porteurs de la mutation familiale ont bénéficié d'une thyroïdectomie prophylactique, qui a permis de montrer l'absence de lésion histopathologique.

**Mots-clefs :** CMTF, Proto-oncogène RET, Mutation

**Oncogénétique****B075/#97****Recherche d'une éventuelle association entre le polymorphisme génétique Asn118Asn du gène ERCC1 et le cancer colorectal chez une population algérienne**

Fatima Zohra MOGHITIT (1), Lotfi LOUHIBI (1), Jacques ROBERT (2), Valérie LE MORVAN (3), Ricardo BELLOT (3), Abdelkader BOUSHABA (4), Ahlem MEGAIZ (5), Nadhira SAIDI-MEHTAR (6), Meriem Samia ABERKANE (7)

1. Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed BOUDIAF (USTOMB), Oran, Algérie., ORAN, Algérie
2. Laboratoire de Pharmacologie des Agents anticancéreux INSERM U916, Institut Bergonié et Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France
3. Laboratoire de Pharmacologie des Agents anticancéreux INSERM U916, Institut Bergonié et Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France
4. Service oncologie médicale, Centre régional de lutte contre le cancer « EL Emir Abdelkader, Oran, Algérie
5. oncologie médicale, Centre régional de lutte contre le cancer « EL Emir Abdelkader, Oran, Algérie
6. Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed BOUDIAF (USTOMB), Oran, Algérie
7. laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, université des sciences et de la technologie d'Oran, Oran, Algérie

**Auteur correspondant :** MOGHITIT Fatima Zohra (fatima.moghitit@gmail.com)

En Algérie, le cancer colorectal (CCR) représente un réel problème de santé publique. Sa survenue implique des facteurs génétiques mais aussi environnementaux. De nombreux gènes de réparation de l'ADN ont été associés au risque de survenue de cette pathologie. Le gène ERCC1 présente de nombreux polymorphismes et pour certains d'entre eux, une association avec l'émergence de nombreux cancers a été mise en évidence par plusieurs études. Le plus étudié de ces polymorphismes est le SNP Asn118Asn (19007 C>T, rs11615).

Le but de notre étude a été de rechercher une éventuelle association entre le polymorphisme Asn118Asn du gène ERCC1 et la survenue du CCR dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien.

Notre étude cas témoins a concerné 80 sujets atteints de CCR et 90 sujets normaux non apparentés. Le génotypage du polymorphisme ERCC1 Asn118Asn a été réalisé par le pyroséquençage. La comparaison des fréquences génotypiques entre les deux groupes est établie par un test  $\chi^2$  et le calcul de l'odds ratio avec un intervalle de confiance à 95 %.

L'analyse statistique ne montre pas de différence au niveau des fréquences génotypiques et alléliques entre les patients et les témoins ( $p > 0,05$ ). Ce résultat pourrait exclure l'éventuelle implication de ce polymorphisme dans la survenue du CCR. Toutefois, ceci reste à confirmer sur un plus large échantillon.

En conclusion, il serait intéressant d'explorer d'autres polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN afin de caractériser d'une manière plus précise le déterminisme génétique du cancer colorectal dans notre population. Cette étude préliminaire est la première du genre sur la population algérienne.

**Mots-clés :** cancer colorectal, association, polymorphisme ERCC1 Asn118Asn

**Oncogénétique****B076/#125****Etude de cas : tumeur colorectale MSI chez une patiente porteuse de mutation APC**

Marine Lebrun (1), Caroline Kientz (2), Stéphane Pinson (3), Qing Wang (4), ML Stachowicz (5), Fabienne Prieur (6), Renaud Touraine (7)

1. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
2. Service de Génétique Clinique, Chromosomique, Moléculaire, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
3. Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des cancers fréquents, Centre Léon Bérard, Lyon, France
5. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
6. Service de Génétique Clinique, Chromosomique, Moléculaire, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
7. Service de Génétique Clinique Chromosomique, Moléculaire, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

**Auteur correspondant :** Lebrun Marine (marine.lebrun@chu-st-etienne.fr)

L'association de mutation délétère du gène APC et d'un des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN (gènes MMR) est très rare. Nous rapportons le cas d'une personne atteinte d'une polypose et ayant développé un cancer colique à 59 ans, porteuse d'une mutation tronquante du gène APC et dont les tests sur tumeur retrouvent une instabilité microsatellitaire et une perte d'expression de MSH2 et MSH6. Il s'agit d'une famille suivie pour une polypose adénomateuse familiale, pour laquelle une mutation a été identifiée dans l'exon 15 du gène APC, c.3640\_3641 dup7pb (p.Ser1214fsX1218). La coloscopie de dépistage réalisée chez cette patiente a constaté une polypose profuse et un adénocarcinome du colon droit (adénocarcinome lieberkühnien, tumeur classée IIA, pT3N0Mx). L'étude sur tumeur, réalisée dans un but thérapeutique retrouve un statut MSI-H et une perte d'expression de MSH2 et MSH6. Cette patiente est porteuse de la mutation du gène APC familiale. L'étude des gènes MMR, à la recherche d'une mutation germinale, est pour l'instant normale, mais n'est pas encore achevée. Les analyses NGS des 4 gènes MMR sont négatives, de même que l'étude par séquençage classique de MLH1 et MSH2 ; la recherche de grand remaniement génomique, ainsi que le séquençage classique de MSH6 sont en cours. Il pourrait s'agir chez cette patiente d'une association d'une polypose adénomateuse familiale et d'un syndrome de Lynch, mais cette hypothèse est peu probable, du fait des premiers résultats des gènes MMR sur l'ADN sanguin. Il est plus vraisemblable que le statut MSI de cette tumeur colorectale soit lié au processus de carcinogénèse, révélant une inactivation acquise et sporadique du système MMR. 6 cas seulement ont été rapportés dans la littérature d'une double hétérozygotie (germinale) d'une mutation du gène APC et d'un des gènes MMR. Ces cas s'associent, en général, à des atteintes précoces et d'évolution sévère. Dans cette famille, l'atteinte clinique est celle d'une polypose classique, et aucun cancer du spectre du syndrome de Lynch n'est relevé. S'il s'agit d'une inactivation sporadique du système MMR dans la tumeur, ce processus s'associe le plus souvent à une anomalie de méthylation du promoteur du gène MLH1, pour les tumeurs qui ont une perte d'expression de MLH1, mais il peut s'associer aussi à la survenue de 2 mutations somatiques acquises des gènes MMR ou d'1 mutation somatique et d'1 mutation germinale en mosaïque. Ces différentes situations conditionnent le conseil génétique et la surveillance pour les membres de cette famille, en particulier ceux qui ne sont pas atteints de polypose. Le résultat de l'étude des gènes MMR sur l'ADN tumoral permettra de trancher.

**Mots-clés :** Polypose adénomateuse familiale, Instabilité microsatellitaire, Syndrome de Lynch

## Oncogénétique

**B077/#131**

### Importance de l'étude moléculaire du gène VHL pour le diagnostic de la maladie de Von-Hippel-Lindau : à propos d'une patiente Tunisienne

Syrine Hizem (1), Imen Rejeb (1), Houweyda Jilani (1), Lamia Hila (2), Fayda Ajili (3), Bassem Louzir (3), Mohamed Dridi (4), Anne Barlier (5), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La Marsa, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de génétique, Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Service de médecine interne, Hôpital Militaire de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Service d'urologie, Hôpital militaire de Tunis, Tunis, Tunisie
5. Laboratoire de biologie moléculaire, Hôpital de la conception, Marseille, France

**Auteur correspondant** : Ben Jemaa Lamia (benjemaal@yahoo.com)

La maladie de Von Hippel Lindau (VHL) est un syndrome héréditaire de transmission autosomique dominante dont la prévalence est estimée à 1/39000 naissances. Elle se manifeste par une panoplie de tumeurs bénignes et malignes dont les plus fréquentes sont les carcinomes à cellules rénales, les hémangioblastomes du système nerveux central et de la rétine, les phéochromocytomes, les tumeurs du pancréas et du sac endolymphatique.

Le diagnostic de la maladie se fait en présence d'une seule tumeur caractéristique (hémangioblastome rétinien ou cérébelleux, phéochromocytome, ou carcinome à cellules rénales) chez les patients ayant des antécédents familiaux de VHL. En absence de ceux-ci, au moins deux lésions caractéristiques sont requises pour établir le diagnostic (deux hémangioblastomes, ou l'association d'un hémangioblastome et d'une tumeur viscérale).

La maladie de VHL est due à des mutations à pénétrance élevée au niveau du gène suppresseur de tumeurs VHL localisé en 3p25.3. Vingt pour cent des patients ne présentent pas d'antécédents familiaux, et leur atteinte serait due à des mutations de novo.

Dans ce travail, nous rapportons un cas de VHL chez une patiente tunisienne âgée de 35 ans, sans histoire familiale de tumeurs viscérales, qui consulte pour lombalgies droites. La TDM abdominale a révélé des masses rénales tissulaires bilatérales, des lésions kystiques pancréatiques, et un nodule surrénalien évoquant un phéochromocytome. Devant cette association tumorale, une phacomatose de VHL a été suspectée. L'étude moléculaire du gène VHL a été révélée la mutation non-sens c.194C>A au niveau de l'exon 1 à l'état hétérozygote et déjà décrite dans la littérature.

La confirmation moléculaire de la maladie de VHL nous permettra un suivi adéquat pour détecter à temps l'apparition de nouvelles tumeurs chez notre patiente et la recherche de la maladie chez les autres membres de la famille.

**Mots-clefs** : Maladie de Von-Hippel-Lindau, hémangioblastome, phéochromocytome

## Oncogénétique

**B078/#133**

### Etude de COségrégation familiale des VARiants nucléotidiques dans les gènes BRCA1/2 pour valider leur utilisation en conseil génétique.

Sandrine Caputo (1), Violaine Bourdon (2), Olivier Caron (3), Joelle Fournier (4), Sous-groupe des laboratoires du Groupe Génétique et Cancer (GCC) d'UNICANCER GGC (5), Lisa Golmard (1), Marine Guillaud-Bataille (6), Agnès Hardouin (7), Christine Lasset (8), Mélanie Léone (9), Audrey Remenieras (2), Etienne Rouleau (1), Olga Sininilkova (9), Dominique Stoppa-Lyonnet (1), Laurent Castera (7)

1. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire d'oncogénétique moléculaire, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
3. Consultations d'oncogénétique et du comité de Génétique, Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Centre Oscar Lambret, Centre Oscar Lambret, Lille, France
5. (Institut Gustave Roussy Villejuif, Centre François Baclesse Caen, Centre Oscar Lambret Lille, Institut Claudius Régaud Toulouse, Hôpital La Pitié-Salpêtrière Paris, Institut Jean Godinot Reims, Centre Paul Strauss Strasbourg, Institut Curie Paris, Centre, -, -, France
6. Gustave Roussy, Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Centre François Baclesse, Centre François Baclesse, Caen, France
8. département de santé publique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
9. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Auteur correspondant** : Caputo Sandrine (sandrine.caputo@curie.net)

Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont des gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein et/ou des ovaires. Les mutations germinales affectant ces gènes sont des mutations inactivatrices qui augmentent de façon significative le risque de développer un cancer. La mise en évidence d'une mutation causale à partir d'un cas index (patient atteint d'un cancer le plus susceptible d'être porteur d'une mutation familiale) permet à l'oncogénéticien de proposer une prise en charge adaptée à tous les membres de la famille selon que les apparentés sont porteurs ou non de la mutation causale. En 2010, une mutation causale, utilisable pour le conseil génétique est mise en évidence dans ~13% des familles explorées. Des Variants nucléotidiques de Signification Inconnue (VSI) sont mis en évidence chez plus de 20% des patients testés. Pour ces familles, des tests génétiques ne peuvent pas être proposés aux apparentés et le conseil génétique est orienté par l'histoire familiale et sur des bases purement épidémiologiques.

La base de données nationale UMD-BRCA1/2, labellisée par l'INCa, permet depuis 1995, le recueil anonyme des résultats des études génétiques réalisées par les laboratoires français autorisés. En septembre 2013, UMD-BRCA1/2 regroupait 6386 familles pour BRCA1 et 7253 familles pour BRCA2 avec 1446 VSI dont 855 différents pour BRCA1 dans 1372 familles et 2849 VSI dont 1385 différents pour BRCA2 dans 2583 familles. Un des arguments essentiel et quantifiable pour le classement des VSI est leur co-ségrégation familiale avec la maladie (apparentés atteints de cancer du sein et de l'ovaire, porteurs du VSI et apparentés indemnes de cancer non porteurs du VSI). Une famille moyenne française étant de petite taille, l'informativité de la co-ségrégation du variant limitée à une seule famille est faible. Néanmoins, la compilation des résultats de co-ségrégation obtenus à partir de plusieurs familles permet, en appliquant la méthode des lod score, de calculer un score en faveur ou non du caractère causal du VSI étudié.

Le but de notre protocole de recherche COVAR (Coségrégation des VARiants) est d'organiser des études de co-ségrégation pour les VSI de la base UMD-BRCA1/2, sélectionnés selon plusieurs critères, afin de définir le caractère causal ou non de ces variants. Actuellement, sur 724 VSI potentiellement éligibles au protocole COVAR, nous avons sélectionné 140 VSI pour l'étude et classé, en neutral/likely neutral ou causal, 303 VSI pour BRCA1 et BRCA2.

Les estimations de probabilité que le VSI soit causal, seront calculées à partir des arbres généalogiques en utilisant un modèle statistique selon Thompson. Ces estimations seront affinées ensuite par



l'utilisation du modèle multifactoriel décrit par D. Goldgar, tenant compte de nombreux critères, y compris les données concernant l'histoire familiale et les caractéristiques tumorales. Le projet COVAR a pour but final de classer tous les VSI de la base nationale afin de pouvoir les utiliser pour le conseil génétique

**Mots-clefs :** Variants nucléotidiques de Signification Inconnue, BRCA1 et BRCA2, Co-segregation

## Oncogénétique

B079/#135

### Mise en place d'un test fonctionnel protéique pour évaluer les variants de signification inconnue des gènes MLH1 et MSH2 responsables de syndrome de Lynch

Laurence Stechly (1), Cyrielle Gesquiere (1), Julie Leclerc (1), Christine Courmont (1), Tonio Lovecchio (1), Anne Talleu (2), Nadine Parsy (2), Guillemette Huet (3), Nicole Porchet (1), Marie-Pierre Buisine (1)  
1. Oncologie et Génétique Moléculaires, Biochimie et Biologie Moléculaire HMNO, CHRU, Lille, France  
2. Oncologie et Génétique Moléculaires et Culture cellulaire, Biochimie et Biologie Moléculaire HMNO, CHRU, Lille, France  
3. Culture cellulaire, Biochimie et Biologie Moléculaire HMNO, CHRU, Lille, France

**Auteur correspondant :** Buisine Marie-Pierre (marie-pierre.buisine@chru-lille.fr)

Le syndrome de Lynch est la principale cause de cancer héréditaire du côlon et de l'endomètre. Il résulte d'une mutation constitutionnelle d'un gène du système de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR, MisMatch Repair) : MLH1, MSH2, MSH6 ou PMS2. L'identification de la mutation responsable de la maladie est essentielle pour confirmer le diagnostic et adapter la prise en charge médicale du patient et de sa famille. Un des défis majeurs actuels est l'interprétation biologique des variants de signification biologique et clinique inconnue (VSI). Ces VSI représentent 20 à 30 % des variations de séquence identifiées dans les gènes MMR. Les études menées depuis plusieurs années au sein du Réseau National des Laboratoires d'Oncogénétique Digestive ont contribué au reclassement de certains d'entre eux en mutations délétères ou variants neutres. Il reste néanmoins un nombre important de VSI qui correspondent à des variations exoniques de type faux sens ou à des délétions/insersions de un à quelques acides aminés et qui sont en attente d'arguments qui permettront leur interprétation. Divers tests fonctionnels des protéines MMR ont été proposés dans la littérature. Cependant, ces tests sont souvent complexes et difficilement implantables dans un laboratoire hospitalier. Nous avons mis en place un test simple, visant à évaluer l'impact des variants des gènes MLH1 et MSH2 sur l'expression des protéines correspondantes, mimant ce qui peut être observé par immunohistochimie dans les tumeurs des patients (perte d'expression de la protéine MMR défectueuse). Ce test consiste à transférer des lignées de cellules cancéreuses coliques déficientes en un gène MMR (HCT116 MLH1<sup>-/-</sup> ou LoVo MSH2<sup>-/-</sup>) avec un vecteur d'expression contenant la séquence codante normale ou mutée, puis à comparer en Western blot les niveaux d'expression des deux protéines. Nous présenterons les premiers résultats obtenus sur une série de variants des gènes MLH1 et MSH2 identifiés dans notre laboratoire, chez des patients suspectés de syndrome de Lynch.

**Mots-clefs :** HNPCC, MMR, test fonctionnel

## Oncogénétique

B080/#161

### Mosaïque somatique et germinale dans le syndrome paragangliome-polyglobulie HIF2A dépendant

Alexandre Buffet (1), Sarra Smati (2), Ludovic Mansuy (3), Mélanie Ménara (4), Maëlle Lebras (2), Christophe Simian (5), Nasséra Abermil (5), Judith Favier (4), Pierre-François Plouin (6), Arnaud Murat (2), Bertrand Cariou (2), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (5)  
1. Service de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France  
2. Clinique d'Endocrinologie, l'Institut du Thorax CHU Nantes, Nantes, France  
3. Département d'Oncologie et d'Hématologie Pédiatriques et de Thérapie Cellulaire, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy Hôpital d'Enfants, Vandœuvre-lès-Nancy, France  
4. INSERM, UMR970, Centre de recherche cardiovasculaire de l'HEGP, Paris, France  
5. Service de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France  
6. Service de Médecine Vasculaire et Hypertension artérielle, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France

**Auteur correspondant :** Buffet Alexandre (alexbuffet13@yahoo.fr)

#### Contexte

Les mutations constitutionnelles activatrices du gène HIF2A n'avaient été décrites jusqu'à récemment que chez des patients ayant une polyglobulie congénitale isolée. Depuis fin 2012, plusieurs mutations somatiques de ce gène ont été rapportées chez des patients ayant l'association d'une polyglobulie, de paragangliomes et/ou de somatostatinoïmes. Une mosaïque somatique a été évoquée pour expliquer les différences d'expression de la maladie mais jusqu'à présent non démontrée. Nous rapportons ici deux nouveaux patients avec paragangliome (PGL) ou phéochromocytome (PH) et polyglobulie porteurs d'une mutation activatrice en mosaïque du gène HIF2A.

#### Patients et méthodes

La première patiente, atteinte d'une polyglobulie diagnostiquée à l'âge de 16 ans, a été successivement opérée d'un PH à 45 ans, d'un PGL abdominal et d'un somatostatinoïme à 64 ans. Le second patient est un jeune garçon atteint d'une polyglobulie depuis la petite enfance et opéré pour un PGL non fonctionnel à l'âge 11 ans.

Nous avons d'abord séquencé l'exon 12 du gène HIF2A par méthode Sanger puis complété par un séquençage profond par NGS.

#### Résultats

Chez la première patiente, nous avons identifié une mutation somatique (c.1586T>C ; p.Leu529Pro) à l'état hétérozygote sur l'ADN extrait des PGL et du PH, et à l'état de mosaïque sur l'ADN extrait du somatostatinoïme. Cette mutation est absente au niveau constitutionnel. Chez le deuxième patient nous avons trouvé au niveau somatique une mutation hétérozygote (c.1625C>T ; p.Leu542Pro), qui est aussi présente à l'état de mosaïque dans l'ADN constitutionnel et dans l'ADN extrait d'un frottis buccal. La quantification par NGS a montré que la mutation est présente dans 3,3 % des reads de séquence obtenus à partir de l'ADN constitutionnel et dans 8,96 % des reads obtenus à partir de l'ADN extrait des cellules buccales. Les deux mutations altèrent le domaine d'hydroxylation de la protéine HIF-2 $\alpha$ .

#### Conclusion

Ces deux nouveaux cas démontrent pour la première fois que le syndrome paragangliome-polyglobulie lié à HIF2A est bien secondaire à un événement post-zygotique précoce pouvant affecter différents tissus. Ainsi, l'hypothèse d'une mosaïque germinale doit être systématiquement envisagée lors du conseil génétique de la famille d'un patient nouvellement diagnostiqué.

**Mots-clefs :** paragangliome, HIF2A, mosaïque

## Oncogénétique

B082/#179

### La mutation c.34G>T du gène KRAS : un nouveau test de dépistage pour la polyposé liée au gène MUTYH

Adeline Aimé (1), Florence Coulet (2), Jérémie Lefèvre (1), Chrystelle Colas (2), Pascale Cervera (3), Jean-François Fléjou (3), Olivier Lascols (4), Yann Parc (1), Emmanuel Tiret (1), Florent Soubrier (2)

1. Chirurgie digestive, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
2. Département de génétique, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Anatomopathologie, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
4. Biologie moléculaire, Hôpital Saint Antoine, Paris, France

**Auteur correspondant :** Aimé Adeline (adelineaime@yahoo.fr)

#### Introduction:

La polyposé associée au gène MUTYH a une prévalence estimée à 0,7% des cancers colorectaux (CCR) et 13,2% des polyposés. Décrite initialement comme une polyposé atténuée, elle présente une grande variabilité d'expression phénotypique. Il n'existe pas actuellement de test de dépistage. Notre objectif était de démontrer que la mutation somatique de type transversion c.34G>T du gène KRAS pourrait servir de test de dépistage pour cette maladie.

#### Matériel et méthodes:

D'une part, une analyse rétrospective bi-centrique comparant les patients atteints de polyposé liée au gène MUTYH (n=30) aux patients atteints de polyposé adénomateuse familiale liée au gène APC (n=47) a été réalisée. La mutation c.34G>T a été recherchée sur 1 à 3 adénomes par patient et 1 adénocarcinome le cas échéant par PCR-HRM suivie de séquençage direct. D'autre part, le gène MUTYH a été séquençé sur ADN constitutionnel chez tous les patients vivants ayant la mutation c.34G>T identifiée en routine entre 2008 et 2012 (n=18) après obtention de leur consentement.

#### Résultats:

La mutation c.34G>T a été retrouvée dans 39,7% des adénomes MUTYH vs 1,6% des adénomes APC (pT. La fréquence de cette mutation au niveau des adénocarcinomes MUTYH était de 58,8% vs aucun des adénocarcinomes APC (p=0,039). Sur les 2239 analyses du gène KRAS sur les CCR, 37,2% étaient mutés et 2,1% avaient la transversion c.34G>T. Sur 18 patients vivants porteurs de cette mutation sur KRAS, cinq (27,7%) avaient une mutation bi-allélique du gène MUTYH. Parmi eux, une patiente avait un CCR d'allure sporadique sans aucun polype et ne répondait donc pas aux critères de test pour MUTYH.

#### Conclusion :

Avec une très forte spécificité et un faible coût, la mutation c.34G>T semble être un test de dépistage efficace de la polyposé liée au gène MUTYH. Devant une polyposé atténuée, il pourrait orienter les tests génétiques vers APC ou MUTYH et, en cas d'identification d'une mutation hétérozygote du gène MUTYH ou d'un variant de signification inconnue, il pourrait aider à la compréhension du mécanisme moléculaire. Réalisé systématiquement chez les patients atteints de CCR, il permettrait de diagnostiquer les patients porteurs d'une mutation bi-allélique sur MUTYH, même lorsqu'ils ne répondent pas aux critères habituels de test, pour organiser une prise en charge adaptée et dépister leurs apparentés. Dès à présent, la détection de cette mutation lors de l'analyse du gène KRAS doit évoquer le diagnostic de mutation bi-allélique du gène MUTYH et conduire à une consultation d'oncogénétique.

**Mots-cléfs :** MUTYH, KRAS, dépistage

## Oncogénétique

B083/#182

### Etude des caractéristiques cliniques et anatomo-pathologiques de la mutation 3600del11 du gène BRCA1 chez les femmes atteintes d'un cancer familial du sein et/ ou de l'ovaire dans la région Lorraine

- Rachelle El Tannouri (1), Elisabeth Luporsi (2)(6), Eliane Albuissou (3), Christine Maugard (4), Myriam Bronner (5), Joanna Sokolowska (5), Philippe Jonveaux (6)
1. Inserm U954, Université de Lorraine, Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
  2. Oncogénétique, Institut de Cancérologie de Lorraine, Alexis Vautrin, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
  3. IECL CNRS UMR 7502, Biobase, Université de Lorraine, CHU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
  4. Oncogénétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
  5. Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
  6. Inserm U954, Laboratoire de Génétique Humaine, CHU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

**Auteur correspondant :** El Tannouri Rachelle (rachelle.eltannouri@gmail.com)

**Contexte:** La grande majorité des mutations délétères identifiées sur le gène BRCA1 sont des mutations "privées". Cependant, certaines d'entre elles proviennent d'un ancêtre commun, à l'origine d'un effet fondateur, telle que la mutation 3600del11. Cette mutation est localisée en France pour 82% des familles porteuses, 85% d'entre elles étant originaires du quart Nord-Est. Parmi les 27 cas-index ayant consulté en Alsace et présentant une mutation de BRCA1, 37% sont porteurs de cette mutation, tous issus de familles originaires des Vosges. L'existence d'un haplotype commun est venue confirmer l'existence d'un effet fondateur.

**Objectifs:** Notre objectif est de préciser les caractéristiques anatomopathologiques du cancer du sein chez des patientes porteuses de la mutation 3600del11 et de comparer ces caractéristiques à celles du cancer du sein de la population des femmes porteuses d'autres mutations sur BRCA1.

**Méthodes:** Nous disposons d'une cohorte de 404 patientes porteuses d'une mutation BRCA1 recrutées à l'Institut de Cancérologie de Lorraine (ICL) sur la période s'étendant de 1995 à 2013. Cent quatre vingt d'entre elles (45%) issues de 89 familles différentes sont associées à la mutation 3600del11. Les données génétiques ont été recueillies à partir des dossiers familiaux, les données cliniques et anatomopathologiques à partir des dossiers médicaux des patientes de l'ICL.

**Résultats:** Cent-vingt sept des patientes porteuses de la mutation 3600del11 ont été atteintes d'un cancer et 122 ont développé un premier cancer de type sein ou ovaire: 91 (71,7%) un cancer du sein, 31 (24,4%) un cancer de l'ovaire. Vingt% des patientes atteintes ont développé un cancer du sein bilatéral et 10% un cancer du sein suivi d'un cancer de l'ovaire. L'âge moyen au diagnostic des patientes atteintes d'un premier cancer du sein est de 43 ans (37%).

**Conclusion:** Dans la littérature, le pourcentage de tumeurs triple négatives chez les femmes présentant une mutation du gène BRCA1 varie de 60 à 80% selon les études. Nos résultats portant sur une population de femmes porteuses de la mutation 3600del11 retrouvent des valeurs voisines. Une analyse plus complète sur une cohorte plus étendue devrait nous permettre de comparer les caractéristiques anatomopathologiques du cancer du sein des patientes porteuses de la mutation 3600del11 à celles des patientes porteuses d'autres mutations sur BRCA1.

**Mots-cléfs :** gène BRCA1, mutation 3600del11, cancer du sein, récepteurs hormonaux, cancer de l'ovaire

## Oncogénétique

**B084/#189**

### Approche gène-candidat dans la recherche de gènes impliqués dans le cancer du sein triple négatif familial non BRCA1 et non BRCA2

M Ollier (1), YJ Bignon (1)

1. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire EA 4677, Centre Jean Perrin, Clermont ferrand, France

**Auteur correspondant :** Ollier Marie (mariesofo@hotmail.com)

Parmi l'ensemble des cancers du sein, 10 à 15% seraient des formes avec prédisposition familiale. La mutation en cause n'est identifiée que pour 15 à 20% de ces cancers avec contexte familial. Les études cherchant à identifier de nouveaux gènes impliqués dans les 80% des cancers familiaux restants sont nombreuses depuis la découverte des gènes BRCA1 et BRCA2.

Cependant, le cancer du sein est un ensemble de tumeurs dont les profils sont très hétérogènes. Cette grande hétérogénéité pourrait en partie expliquer l'échec de stratégies globales de recherche de facteurs de haut risque génétiques constitutionnels.

Nous avons choisi d'étudier un groupe particulier de patientes, celles atteintes par un cancer du sein triple négatif, dans un contexte familial, sans mutations retrouvées dans BRCA1 ou BRCA2. Les cancers du sein triple négatifs (CSTN) représentent 10 à 20% de la totalité des cancers du sein. Ce sont des cancers agressifs qui affectent plus fréquemment des patientes jeunes. Le traitement des CSTN, définis comme n'ayant ni récepteurs hormonaux, ni amplification de HER2, reste problématique étant donné l'absence de cible moléculaire bien définie. Une partie des CSTN a pu être reliée à des mutations du gène BRCA1 (15,6%) ou BRCA2 (3,9%), ouvrant de nouvelles voies thérapeutiques potentielles, tels les anti-PARP1.

Pour cette étude, nous avons inclus 55 patientes à partir de la base de données du service d'oncogénétique. Elle répertorie toutes les patientes ayant consulté en oncogénétique au Centre Jean Perrin (11 000 personnes environ), associées à leur arbre généalogique et aux cancers présentés par les apparentés.

Nous étudions 38 gènes candidats pour leur rôle potentiel dans la susceptibilité héréditaire au cancer du sein. Ces gènes sont impliqués dans les processus de réparation des cassures de l'ADN pertinents, ont un rôle important dans la voie BRCA1 (la plus impliquée dans les CSTN), ou sont retrouvés comme associés aux CSTN.

La recherche de nouveaux gènes de prédisposition aux cancers du sein améliorerait le dépistage des patientes à risque élevé de cancers du sein. Le dépistage a une importance majeure dans ces familles où les cancers du sein surviennent souvent à des âges plus jeunes que ceux de la population générale, échappant ainsi aux dépistages organisés. Or le dépistage précoce de ces cancers permet aux femmes de bénéficier de traitements moins lourds et plus efficaces.

A plus long terme, l'identification de nouveaux gènes impliqués dans la genèse de cancers du sein héréditaires permettra une meilleure compréhension des processus de cancérogénèse impliqués spécifiquement dans certains types de cancer. L'objectif final de la compréhension de ces mécanismes de cancérogénèse est de permettre l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles et peut aboutir à la mise en place de prise en charge personnalisée des patientes par le développement de nouvelles thérapies ciblées.

**Mots-clefs :** Cancer du sein triple négatif, prédisposition familiale non-BRCA1 et non-BRCA2, gènes candidats

## Oncogénétique

**B085/#207**

### PMS2: le séquençage nouvelle génération peut-il faciliter l'analyse du gène?

Erell Guillem (1), Julie Duclos (1), Gaëlle Legrand (1), Filipe Pires (1), Chrystelle Colas (1), Jérémie Lefevre (2), Mélanie Eyries (1), Qing Wang (3), Yann Parc (2), Florent Soubrier (1), Florence Coulet (1)

1. UF d'oncogénétique et d'angiogénétique moléculaire, Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

2. Chirurgie digestive, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France

3. Oncologie Moléculaire, Centre Leon Berard, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Guillem Erell (erellguillem@gmail.com)

Le syndrome de Lynch ou cancer colorectal héréditaire sans polyposé (HNPCC), est la forme la plus fréquente de cancer colorectal héréditaire. Il est directement lié à des mutations d'un gène de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR). Les gènes MLH1 et MSH2 sont les plus fréquemment impliqués mais PMS2, qui forme un hétérodimère avec MLH1, peut également être responsable de ce syndrome. La combinaison des critères cliniques, de l'instabilité microsatellitaire, de la non méthylation de MLH1 et de la perte d'expression en immunohistochimie des protéines MMR, permet généralement d'orienter l'analyse des gènes MMR. Les difficultés d'analyses des mutations de PMS2 sont inhérentes à la similarité de séquence entre PMS2 et le pseudogène PMS2CL. Nous avons évalué l'apport du séquençage de nouvelle génération avec la technologie 454 après amplification multiplex (HNPCC MASTR®) pour le diagnostic de PMS2, en analysant plusieurs patients diagnostiqués pour cancer colorectal. Aucun des patients ne remplissait les critères d'Amsterdam II, mais chacun d'eux avait une instabilité microsatellitaire, une non méthylation de MLH1 et aucune mutation germinale de MLH1 et MSH2 identifiée par séquençage Sanger. Nous avons sélectionné des patients présentant une perte d'expression spécifique et complète de PMS2, ou une perte d'expression combinée de MLH1 et de PMS2, ou une immunohistochimie PMS2 ininterprétable. Nous avons également analysé 4 ADN contrôles ayant des mutations de PMS2 préalablement identifiées par séquençage Sanger.

Les amorces permettant l'amplification des 5 derniers exons de PMS2 (exons 11-15) ne sont pas discriminatifs entre PMS2 et le pseudogène PMS2CL, mais grâce au grand nombre de séquences générées en NGS sur la même région, il est possible de quantifier la représentation relative des variants spécifiques du pseudogène. L'ensemble des mutations déjà connues, incluant une conversion génique, ont été mises en évidence par cette méthode. Dans notre cohorte, nous avons détecté des mutations monoalléliques du gène PMS2, conduisant à un syndrome de Lynch, telles qu'une mutation avec décalage du cadre de lecture dans l'exon 13 (c.2243\_2246delAGAA, p.Lys748MetfsX19) et une conversion génique débutant à l'exon 11 de PMS2. Nous avons également identifié une mutation d'épissage biallélique dans l'intron 11 (c.2007-2A>G) entraînant un syndrome de déficit constitutionnel de la réparation des mésappariements (CMMRD). Le séquençage de nouvelle génération simplifie l'analyse du gène PMS2 sur ADN génomique grâce à une analyse bioinformatique secondaire permettant de soustraire les séquences du pseudogène. Par ailleurs, les conversions géniques, où la séquence du pseudogène PMS2CL remplace celle du gène PMS2, peuvent être détectées, même si les bornes des conversions doivent être confirmées par une analyse complémentaire.

**Mots-clefs :** PMS2, NGS, syndrome de Lynch

## Oncogénétique

B086/#215

### Analyse moléculaire des RASopathies chez des patients Tunisiens

Nehla GHEDIRA (1)

1. Unité de recherche d'Epidémiologie et thérapeutique des malformations du centre Tunisien, Faculté de Médecine de Monastir, Monastir, Tunisie

**Auteur correspondant :** GHEDIRA Nehla (gnehla@yahoo.fr)

#### INTRODUCTION :

Les RASopathies sont une classe d'anomalies de développement causées par des mutations de la voie de signalisation intracellulaire RAS-MAPKinase. Ces syndromes présentent des tableaux cliniques chevauchants se manifestant par un faciès caractéristique, des anomalies cardiaques et cutanées, un retard mental et une prédisposition à certains cancers.

#### OBJECTIF :

Confirmer le diagnostic clinique des RASopathies chez des patients Tunisiens par une analyse moléculaire des différents gènes impliqués.

#### METHODOLOGIE :

Des mutations des différents effecteurs de la voie RAS-MAPKinase sont recherchées par séquençage bi-directionnel de l'ADN génomique (séquence codante et jonctions intron/exon).

#### RESULTATS :

Cette étude nous a permis de trouver 3 mutations impliquées dans le syndrome de Noonan, 1 mutation décrite dans le CFC. On a pu mettre en évidence la présence, à l'état hétérozygote, d'une nouvelle mutation au niveau de l'exon 3 du gène PTPN11 chez une nouveauté atteinte du syndrome de Noonan et présentant une sténose artère pulmonaire. L'absence de cette mutation chez les parents suggère qu'il s'agit d'une néo-mutation.

#### CONCLUSION :

La mutation trouvée chez la patiente Tunisienne n'a pas encore été décrite dans la littérature mais d'autres mutations touchant le même acide aminé ont été observées chez des patients atteints du Syndrome de Noonan. Une étude plus approfondie de ce gène et de cette position hot spot serait souhaitable afin de comprendre la physiopathogénie de ces mutations.

**Mots-clés :** RASopathies, voie de signalisation intracellulaire RAS-MAPKinase, syndromes polymalformatifs congénitaux

## Oncogénétique

B087/#229

### Syndromes avec hypertrophies localisées et mutations activatrices en mosaïque de PIK3CA/AKT1

Louise Crivelli (1), Eric Bieth (2), Martine Le Merrer (3), Anne Phillippe (3), Claude Cances (4), Bernadette Gastaldello (1), Françoise Bonnet (1), Nathalie Jones (1), Nicolas Sevenet (1), Michel Longy (1)

1. Unité d'Oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France

2. Génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France

3. Unité de Génétique clinique, Hôpital Necker, Paris, France

4. Service de Neurologie pédiatrique, Hôpital des enfants, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Crivelli Louise (louisecrivelli@gmail.com)

**Introduction :** Les syndromes avec hypertrophies localisées sont liés à des mutations affectant la voie de signalisation PI3K/AKT : un deuxième évènement de PTEN en mosaïque dans la Maladie de Cowden, une mutation activatrice d'AKT1 en mosaïque 1-2 dans le syndrome de Protée, ou encore une mutation activatrice de PIK3CA2-3-4 dans le syndrome de Cloves notamment, ont été décrites.

**Méthode :** Nous rapportons l'analyse de quatre patients présentant des phénotypes variés. Le patient 1 présentait des hypertrophies localisées (crânio-faciales et de la main droite) et une hémimégalencephalie. Le patient 2 présentait une hyperostose localisée de la voûte crânienne et un retard des acquisitions. Le patient 3 présentait une macrocéphalie associée à une hémimégalencephalie, une angiomatose néonatale et un trouble envahissant du développement. Le patient 4 présentait une hypertrophie de la jambe gauche et des lipomes multiples. Tous ont bénéficiés en premier lieu d'une analyse du gène PTEN à partir d'ADN leucocytaire, sans mutation retrouvée. En second lieu, des mutations ponctuelles des gènes AKT1 (exon 3) et/ou PIK3CA (exons 10 et 21, les plus fréquemment retrouvés en pathologie tumorale auxquels ont été rajoutés les exons 2, 5, 6, 8, 14, 19) ont été recherchées par séquençage Sanger, à partir d'ADN de fibroblastes cutanés en culture (patients 1, 3, 4) ou d'ADN issue d'une excroissance osseuse et d'une biopsie cutanée (patient 2).

**Résultats :** Chez les patients 1 et 2 ont été identifiés une mutation activatrice en mosaïque d'AKT1 (c.49G>A, p.Glu17Lys), et chez les patients 3 et 4 ont été identifiés une mutation activatrice en mosaïque de PIK3CA (respectivement c.2740 G>A, p.Gly914Arg (exon 19) et c.1624G>A, p.Glu542Lys (exon 10)). Ces trois mutations ont été précédemment décrites 1-2-3.

**Conclusion :** L'exploration de la voie de signalisation PI3K/AKT dans les tissus concernés est indiquée chez les patients atteints d'un syndrome d'hypertrophies localisées, permettant le diagnostic moléculaire de phénotypes complexes, hétérogènes, et fréquemment mal systématisés qui font néanmoins appel à une pathogénèse commune. La confirmation du mosaïcisme somatique contribue aussi à préciser le conseil génétique.

#### Références

- 1- Lindhurst et al., A mosaic activating mutation in AKT1 associated with the Proteus syndrome. *N Engl J Med.* 2011; 365(7), 611-619.
- 2- Rivière et al., De novo germline and postzygotic mutations in AKT3, PIK3R2 and PIK3CA cause a spectrum of related megalencephaly syndromes. *Nat Genet.* 2012; 44 (8), 934-940.
- 3- Kurek et al., Somatic mosaic activating mutations in PIK3CA cause CLOVES syndrome. *Am J Hum Genet.* 2012; 90, 1108-1115.
- 4- Lindhurst et al., Mosaic overgrowth with fibroadipose hyperplasia is caused by somatic activating mutations in PIK3CA. *Nat Genet.* 2012; 44(8), 928-933.

**Mots-clés :** Hypertrophies localisées, AKT1, PIK3CA



## Oncogénétique

B088/#232

### Sous-estimation des mutations exoniques d'épissage : le paradigme du gène MLH1 impliqué dans le syndrome de Lynch

Stéphanie Baert-Desurmont (1), Thierry Frébourg (2), Pascaline Gaildrat (3), Mohamad Hamieh (3), Alexandra Martins (4), Omar Soukariéh (3), Mario Tosi (3)  
 1. Département de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France  
 2. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen; Département de Génétique, CHU de Rouen; Cancéropôle Nord-Ouest, Rouen, France  
 3. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Rouen, France  
 4. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, France, Cancéropôle Nord-Ouest, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Martins Alexandra (alexandra.martins@univ-rouen.fr)

Les variations nucléotidiques identifiées chez des patients peuvent être délétères non seulement par leur effet sur la protéine, mais aussi en affectant directement l'épissage de l'ARN, soit en altérant les sites d'épissage, soit en modifiant des éléments régulateurs d'épissage. Il est donc essentiel d'estimer l'impact des mutations sur l'épissage avant d'entreprendre des analyses fonctionnelles, souvent complexes, au niveau protéique. Nous avons systématiquement analysé l'effet sur l'épissage de toutes les substitutions ponctuelles ( $n = 22$ ), rapportées dans la base de données Leiden Open Variation Database, localisées dans l'exon 10 de MLH1, un gène impliqué dans le cancer colorectal héréditaire non polyposique ou syndrome de Lynch. Des tests *ex vivo* d'épissage basés sur l'utilisation de minigènes ont révélé que 17 des 22 mutations testées ont un impact sur l'épissage par différents mécanismes : (i) création d'un site d'épissage interne, (ii) induction du saut de l'exon ou (iii) augmentation de l'inclusion de l'exon. Les mutations d'épissage situées en dehors des sites d'épissage ( $n=10$ ), mais augmentant soit le saut ( $n=7$ ) soit l'inclusion ( $n=3$ ) de l'exon, ont également été analysées dans le contexte d'un minigène entièrement hétérologue et particulièrement sensible à la présence de séquences exoniques régulatrices d'épissage. Les résultats obtenus indiquent que ces mutations altèrent en effet des éléments régulateurs d'épissage. Contrairement aux mutations qui touchent les sites canoniques d'épissage, l'effet de celles qui touchent des éléments potentiels régulateurs d'épissage ne peut pas être prédit de façon fiable. Nous avons développé une nouvelle approche de prédiction *in silico* basée sur la publication récente d'hexamères impactant l'épissage identifiés à partir d'une bibliothèque artificielle (Ke et al., 2011). La confrontation de ces prédictions avec nos données fonctionnelles a révélé une très bonne sensibilité et spécificité de cette nouvelle approche bioinformatique. En conclusion, ce travail suggère que les mutations impactant l'épissage sont sous-estimées en pathologie humaine et que ce nouvel outil bioinformatique, basé sur les hexamères, pourrait constituer un outil d'intérêt en génétique moléculaire pour repérer les variations susceptibles d'impacter la régulation de l'épissage.

**Mots-clés :** mutations exoniques, régulation de l'épissage, MLH1, cancer colorectal héréditaire non polyposique, syndrome de Lynch, prédictions bioinformatiques

## Oncogénétique

B089/#236

### La mutation synonyme (c.414A>G ; p.Pro138Pro) du gène VHL est une mutation pathogène

Jean-Michaël MAZZELLA (1), Christophe SIMIAN (2), Laurence HEIDET (3), Karim BOUCHIREB (3), Nassera ABERMIL (2), Valérie NAU (2), Mélanie MENARA (4), Judith FAVIER (4), Sabine IRTAN (5), Sophie DEVEAUX (6), Stéphane RICHARD (6), Khadija LAHLOU-LAFORET (1), Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO (1)

1. Consultation pluridisciplinaire d'oncogénétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France  
 2. Laboratoire de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France  
 3. Service de Néphrologie, Hôpital Necker, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France  
 4. UMR970, Centre de recherche Cardiovasculaire de l'HEGP, INSERM, Paris, France  
 5. Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Necker, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France  
 6. Centre Expert National Cancers Rares PREDIR, Hôpital Bicêtre, INCa-Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Le Kremlin-Bicêtre, France

**Auteur correspondant :** MAZZELLA Jean-Michaël (jean-michael.mazzella@egp.aphp.fr)

La maladie de von-Hippel Lindau (VHL) est une affection héréditaire associant principalement hémangioblastomes (Hb) rétiens et/ou du système nerveux central, cancers du rein, kystes et tumeurs endocrines du pancréas et phéochromocytomes/ paragangliomes (PHEO/PGL). Le gène VHL est composé de 3 exons, codants pour un ARNm de 4,7 kb, mais aussi pour un transcrit mineur de VHL délété de son exon 2 (isoforme VHLdelta2).

Le cas index est une jeune fille opérée d'un PHEO gauche de 40 mm de diamètre à l'âge de 12 ans dans un contexte familial (père et grand-père paternel opérés de PHEO/PGL). Un conseil génétique a été organisé pour cette famille dans le cadre de la consultation pluridisciplinaire d'oncogénétique de l'HEGP qui comporte une approche psychologique systématique. Il est apparu que le diagnostic de PHEO avait été longtemps incertain pour cette enfant alors que son père et son grand-père savaient qu'ils avaient été préalablement opérés de PHEO, illustrant le rôle du déni en tant que mécanisme de défense contre la culpabilité de transmission de la maladie. Dans ce contexte familial particulier, le fait de devoir tester trois générations a demandé une réflexion sur la temporalité de l'organisation des tests génétiques.

Une mutation sur l'un des principaux gènes de prédisposition aux PHEO/ PGL (VHL, RET, SDHB, SDHD, MAX et TMEM127) a d'abord été recherchée chez le cas index. Sur l'ADN extrait du premier prélèvement sanguin, seul un variant de signification inconnue (VSI) du gène VHL a été identifié. Ce VSI responsable d'une mutation silencieuse (c.414A>G ; p.Pro138Pro), hérité de la branche paternelle (père et grand-père), était présent sur l'ADN tumoral du PHEO de la patiente associé à une perte d'hétérozygotie. Ce VSI n'était pas répertorié dans Exome Variant Server. Une analyse par ESEfinder suggérait la création d'un nouveau site cryptique d'épissage induisant le skipping de l'exon 2 du gène VHL. Des investigations complémentaires menées sur les ARNm leucocytaires et tumoraux ont révélé une surexpression de l'isoforme courte VHLdelta2 dans les ARN leucocytaires des trois sujets atteints et une absence totale de transcrit VHL complet dans la tumeur.

Ces données ont permis de poser définitivement le diagnostic de la maladie de von-Hippel Lindau dans cette famille. A l'issue de la consultation de rendu définitif de résultat, le père et le grand-père de cette jeune fille ont été orientés vers le Centre Expert National Cancers Rares PREDIR pour leur prise en charge clinique. Chez le grand-père, des lésions typiques de la maladie de VHL de type 2 étaient présentes (des Hbs quiescents du cervelet et de la moelle, un paragangliome rétro-cave ainsi que deux tumeurs rénales nécessitant une exérèse chirurgicale).

En conclusion, cette famille illustre l'importance d'une analyse fonctionnelle approfondie des mutations synonymes non décrites.

**Mots-clefs :** Maladie de von-Hippel Lindau, Mutation synonyme, Création d'un site cryptique d'épissage

## Oncogénétique

**B090/#242**

### Spectre phénotypique des mutations constitutionnelles du gène DICER1 à partir de la description de 2 familles et de la revue de la littérature.

Isabelle Mortemousque (1), Marie-Pierre Moizard (2), Karim Braik (3), Nathalie Magontier (4), Gaétan Amorin (5), Golmard Lisa (5), Claude Houdayer (5), Martine Raynaud (1)

1. Service de Génétique, CHU Bretonneau, TOURS, France
2. Service de génétique, CHU Bretonneau, TOURS, France
3. Service de Chirurgie Pédiatrique, CHU Clocheville, TOURS, France
4. Consultations Endocrinologie Pédiatrique, CHU Clocheville, TOURS, France
5. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Institut Curie, PARIS, France

**Auteur correspondant :** Mortemousque Isabelle (i.mortemousque@chu-tours.fr)

Le gène DICER 1, localisé en 14q32.13, code pour une endoribonucléase intervenant dans la maturation des microARN (miARN). Ces ARN non-codants, formés d'environ 20 nucléotides, interagissent avec l'ARN messager (ARNm) pour réguler l'expression génique. De ce fait, ils jouent un rôle capital dans de nombreux processus physiologiques tels que la prolifération ou la différenciation cellulaire. Ils interviennent également dans les processus de cancérogénèse; l'identification dans les tumeurs d'une fréquence élevée, d'une part de CNV (copy number variant) impliquant les régions chromosomiques contenant les miARN et/ou, d'autre part d'altérations des gènes régulant les miARN – tel que DICER1 – en sont une preuve.

En 2009, Hill et al. , étudie 4 familles composées d'au moins un individu atteint de blastome pleuropulmonaire (PPB) avec récurrence familiale de tumeurs pédiatriques : PPB, kyste pulmonaire, néphrome kystique rénal, rhabdomyosarcome embryonnaire. Les études de liaison localisent une région de 7 Mb en 14q34 dans laquelle le gène DICER1 apparaît comme un candidat potentiel intéressant. Le séquençage direct identifie une mutation constitutionnelle du gène DICER1 dans les 4 familles rapportées et également dans 7 familles de profil identique répertoriées via le International PPB Registry.

Des études ultérieures vont identifier des mutations constitutionnelles du gène DICER1 chez des individus et/ou dans des familles concernés par l'existence de pathologies tumorales rares (PPB, tumeur ovarienne des cellules de Sertoli-Leydig, néphrome kystique) mais également dans de rares familles présentant une récurrence d'une pathologie tumorale bénigne fréquente et à priori isolée : le goitre thyroïdien multinodulaire. Ces études semblent par ailleurs démontrer que les mutations constitutionnelles du gène DICER1 s'accompagnent d'une pénétrance incomplète et d'une expression variable chez les individus concernés.

Dans le cadre des consultations d'oncogénétique nous avons eu l'opportunité de recevoir 2 individus dont l'histoire personnelle et familiale pouvait être compatible avec l'existence d'une mutation germinale du gène DICER1, hypothèse confirmée par l'analyse moléculaire ultérieure : Marina, prise en charge pour un carcinome folliculaire de la thyroïde à 12 ans et une tumeur des cellules de Sertoli-Leydig de l'ovaire droit à 14 ans ; et Akim, pris en charge pour un néphrome kystique à 2 ans.

A partir de l'analyse de ces 2 familles et en reprenant les données actuelles de la littérature, nous nous proposons de préciser le spectre phénotypique des mutations constitutionnelles du gène DICER1. Par ailleurs, en tenant compte du défaut de pénétrance, de la variabilité d'expression et de l'existence d'une éventuelle corrélation génotype-

phénotype, nous discuterons de l'intérêt de la mise en place d'une surveillance ciblée chez les individus porteurs.

**Mots-clefs :** DICER1, phénotype, surveillance

## Oncogénétique

**B091/#249**

### Apports du séquençage haut-débit par capture de gènes dans le diagnostic moléculaire des prédispositions héréditaires au cancer du colon

Julie TINAT (1), Françoise CHARBONNIER (2), Sophie COUTANT (2), Myriam VEZAIN (2), Gaëlle BOUGEARD (2), Jacqueline BOU (1), Steeve FOURNEAUX (1), Stéphanie BAERT-DESURMONT (1), Thierry FREBourg (1), Isabelle TOURNIER (2)

1. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
2. Inserm U1079, Université de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** TINAT Julie (julie.tinat@chu-rouen.fr)

Le laboratoire de Génétique de Rouen réalise depuis 20 ans le diagnostic moléculaire des formes Mendéliennes de cancer du colon : Syndrome de Lynch, Polyposes Adénomateuses et Polyposes Hamartomateuses. Depuis 2012, une stratégie de séquençage simultané des exons, introns et séquences régulatrices en 5' et 3' de 10 gènes (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, APC, MUTYH, STK11, SMAD4, BMPR1A et PTEN) a été développée par NGS avec un double objectif : diminuer les délais de rendu de résultats et rechercher de nouveaux types d'altérations dans les régions non explorées au titre du diagnostic chez des patients évocateurs d'une prédisposition héréditaire au cancer du colon sans altération moléculaire identifiée. Notre stratégie combine un enrichissement par capture en phase liquide (SureSelect, Agilent) puis un séquençage haut-débit sur une plate-forme GAllx (Illumina). Le criblage du gène TP53 impliqué dans le syndrome de Li-Fraumeni a été intégré, l'accès aux données obtenues étant cependant limité aux patients pour lesquels cette analyse a été prescrite. Notre stratégie de séquençage comprend un multiplexage pré et post-capture (5 patients par réaction de capture et 10 patients par ligne de flowcell) puis un séquençage paired-end 2x75 pb, permettant l'analyse de 80 patients par run. Notre pipeline d'analyse bioinformatique intègre l'analyse des images (RTA, Illumina), le démultiplexage, l'alignement et le variant calling (CASAVA, Illumina) et l'annotation des variants (AlamutHT, Integrative Biosoftware). Toutes les variations délétères sont confirmées par séquençage Sanger. Cette stratégie a été validée en 2011 par l'analyse de 70 patients présentant 120 variations (74 mutations ponctuelles, 34 insertions/délétions et 12 réarrangements de grande taille) puis en 2012 par celle de 50 patients analysés en parallèle à l'aveugle par séquençage Sanger. La faisabilité et la robustesse de cette approche étant confirmées, elle a été implémentée en routine au laboratoire diagnostique avec près de 300 patients analysés fin 2013. Notre expérience confirme que cette stratégie par NGS représente un progrès important dans le diagnostic des formes Mendéliennes de cancer du colon : (1) réduction progressive des délais de rendu de résultats par l'analyse en parallèle de plusieurs gènes; (2) correction du diagnostic dans des familles présentant des phénotypes chevauchants (Syndrome de Lynch / Polypose atténuée); (3) détection d'altérations non identifiables par le séquençage Sanger et la QMPSF, telles les insertions Alu; (4) détection de mosaïques. Compte-tenu du grand nombre d'étapes de préparation des échantillons et de patients analysés, un test rapide "d'identivigilance moléculaire" pour exclure tout risque d'erreur d'échantillon biologique est en cours de développement au laboratoire. L'implémentation dans le pipeline informatique d'algorithmes dédiés aux réarrangements complexes et mutations introniques profondes devrait augmenter le taux de détection de mutations.

**Mots-clefs :** Séquençage Haut Débit, Syndrome de Lynch, Polypose colique

## Oncogénétique

B092/#252

### Analyse moléculaire et corrélation phénotype génotype chez 348 patients atteints de sclérose tubéreuse de Bourneville

Leila Boukhalifa Medjenah (1), Viviana Granados (2), caroline kientz (1), Anies Combes (1), claire siterre (3), Renaud Touraine (1)

1. Service de génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
2. Service de génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU de saint-Etienne, saint-Etienne, France
3. service de génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

**Auteur correspondant :** Boukhalifa Medjenah leila (leilaboukhalifa@gmail.com)

La Sclérose Tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie autosomique dominante d'expressivité très variable avec un risque épilepsie, de déficience intellectuelle et de multiples lésions tumorales (cutanées, cérébrales, ophtalmologiques, cardiaques, rénales et pulmonaires). Deux gènes suppresseurs de tumeurs sont impliqués dans la STB, TSC1 (9q34) et TSC2 (16p13).

Nous présentons ici l'analyse moléculaire chez 348 cas index qui ont été étudiés dans notre laboratoire entre 2002 et 2012. Tous ces patients ont une STB certaine ou probable selon les critères cliniques. Pour 55 cas index le diagnostic a été suspecté ou fait en anténatal, 25 sont nés vivants et 30 grossesses ont été interrompues.

Les recherches de mutation ont été effectuées par DHPLC/séquençage et par MLPA pour les délétions de grande taille.

Différentes mutations pathogènes ont été identifiées chez 263 (76%) patients, ces mutations affectent le gène TSC1 chez 79 cas et le gène TSC2 chez 184 cas. Parmi les cas sans mutation identifiée, 20% sont des formes familiales. Il en est de même pour les cas où une mutation de TSC2 a été identifiée. La proportion de cas familiaux est supérieure (40 à 50%) en cas de mutation de TSC1 ou si les premiers symptômes sont plus tardifs (après l'âge de 2 ans). Néanmoins pour les 2/3 des cas index les symptômes ont débuté avant l'âge de 2 ans.

Environ 1/3 des mutations ponctuelles identifiées n'étaient pas répertoriées dans la base de données TSC (<http://chromium.liacs.nl/LOVD2/TSC/home.php>). Une grande délétion a été retrouvée par MLPA chez 26 patients (10%) (10 sur TSC1 et 16 sur TSC2). 75% des mutations sont de novo (24% sur TSC1 et 76% sur TSC2) et 25% sont héritées (46% sur TSC1 et 54% sur TSC2). Parmi les patients mutés sur le gène TSC1 environ 71% n'ont pas de déficience intellectuelle, contre seulement 42% des patients mutés pour TSC2. Confirmant ainsi le pronostic moins favorable des mutations de TSC2. Toutefois l'âge des premiers symptômes et l'absence d'épilepsie sont également des facteurs pronostics importants. Au total 71% des cas index avaient une épilepsie (25% des spasmes infantiles). Le risque de début d'une épilepsie est deux fois plus important en cas de mutation de TSC2.

Il semble y avoir un rôle pronostic selon la position de la mutation dans le gène TSC1 ou TSC2, mais nous n'aboutissons pas aux mêmes conclusions que la littérature (par exemple nous avons plusieurs exemples de déficience intellectuelle en cas de mutation dans la partie terminale de TSC1).

L'exploration moléculaire de TSC1 et TSC2 est importante non seulement pour le conseil génétique, mais pourra également apporter des éléments modulant le pronostic. Nous confrontons nos données à celles de la littérature, mais un plus grand nombre de patients est nécessaire pour valider ces hypothèses.

**Mots-clés :** Sclérose Tubéreuse de Bourneville, TSC1 et TSC 2 genes, corrélation phénotype génotype

## Oncogénétique

B093/#265

### Cancer de l'ovaire isolé : un mode de révélation du syndrome de Lynch ou de l'intérêt des analyses somatiques

Chrystelle COLAS (1), Annie CORTEZ (2), Florence COULET (3), Hélène DELHOMELLE (4), Anne FAJAC (5), Jean-François FLEJOU (6), Olivier LASCOLS (7), Florent SOUBRIER (3), Mathilde WARCOIN (3)

1. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, Consultation d'Oncogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière APHP, Hôpital Saint Antoine APHP, PARIS, France
2. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Tenon APHP, PARIS, France
3. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière APHP, PARIS, France
4. Consultation d'Oncogénétique, Hôpital Saint-Antoine APHP, PARIS, France
5. Service d'Oncologie Médicale, Hôpital Tenon APHP, PARIS, France
6. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Saint-Antoine APHP, PARIS, France
7. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires, Hôpital Saint-Antoine APHP, PARIS, France

**Auteur correspondant :** WARCOIN Mathilde (mathilde.warcoin@gmail.com)

Le cancer de l'ovaire est un cancer rare avec 4615 nouveaux cas en 2012 en France. Son risque est augmenté dans la prédisposition familiale aux cancers du sein et de l'ovaire, due à une mutation des gènes BRCA1 ou 2. Cependant, il existe d'autres pathologies génétiques dans lesquelles ce risque est augmenté mais n'est pas la manifestation première.

Ainsi le syndrome de Lynch, dû à une mutation d'un des 4 gènes MMR, se caractérise par une augmentation du risque de développer des cancers colorectaux, de l'endomètre, des voies excrétrices urinaires, de l'intestin grêle (spectre étroit) mais aussi des cancers de l'ovaire (risque cumulé à 80 ans : de 1 à 38% selon le gène en cause3).

L'analyse somatique de la tumeur est généralement un préalable à l'analyse génétique constitutionnelle. En effet, ces tumeurs présentent une perte de la protéine correspondante en immuno-histochimie et une instabilité des séquences microsatellites (MicroSatellite Instability : MSI). Ce profil peut être aussi être observé lors d'une altération génétique non constitutionnelle : la méthylation du promoteur de MLH1.

Actuellement, les critères de Bethesda sont les plus couramment utilisés pour porter l'indication d'une analyse somatique. Ces critères ne prennent en compte que les cancers du spectre étroit du syndrome de Lynch chez un individu ou dans une famille.

Nous rapportons 3 familles dans lesquelles le cas index présentait un cancer de l'ovaire, associé ou non à des cancers du sein dans la famille, sans mutation des gènes BRCA identifiée. L'âge moyen au diagnostic était de 45 ans (de 33 à 53 ans) et le type histologique était variable, certains s'accompagnant d'une localisation endométriale. Des analyses somatiques, demandées de façon systématique, ont mis en évidence des arguments en faveur d'un syndrome de Lynch (phénotype MSI et/ou perte d'expression d'une des protéines MMR). Les analyses constitutionnelles ont retrouvé une mutation de MSH2 chez une patiente, un variant de signification inconnue de MSH2 chez une autre et une méthylation somatique du promoteur de MLH1 chez une autre. Depuis, 3 autres patientes dans la même situation ont été identifiées, leurs analyses somatiques sont en faveur d'un syndrome de Lynch et les analyses constitutionnelles sont en cours.

En conclusion, un cancer de l'ovaire, même isolé, peut être un mode de révélation d'un syndrome de Lynch. Il est donc important d'évoquer cette hypothèse lors de la première consultation de génétique car les implications en termes de surveillance pour la patiente et sa famille sont très différentes. Des analyses somatiques devraient être proposées de façon systématique dans cette situation et ce quelle que soit l'histologie du cancer de l'ovaire. Enfin, ce chevauchement clinique entre les prédispositions héréditaires aux cancers digestifs et aux cancers gynécologiques est un argument pour établir des panels

de gènes communs pour les analyses par séquençage de nouvelle génération.

**Mots-clefs :** Syndrome de Lynch, Cancer de l'ovaire, Analyses somatiques

## Oncogénétique

**B094/#267**

### Mutations bi-alléliques du gène PMS2 : présentations phénotypiques différentes chez deux jumelles monozygotes

Florence Amram (1), Denis Boidin (2), Marie-Pierre Buisine (2), Henri Sevestre (3), Bénédicte Demeer (4), Vincent Hautefeuille (5), Guillaume Jedraszak (4), Julie Leclerc (2), Michèle Mathieu-Dramard (4), Gilles Morin (4)

1. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, France, France
2. Laboratoire d'Oncologie et Génétique Moléculaires, CHRU de Lille, LILLE, France
3. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique, CHU d'Amiens, AMIENS, France
4. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, AMIENS, France
5. Service d'Hépatogastro-Entérologie, CHU d'Amiens, AMIENS, France

**Auteur correspondant :** Jedraszak Guillaume (guillaumejedraszak@yahoo.fr)

Les mutations des gènes MMR (MisMatch Repair) - MLH1, MSH2, MSH6, et PMS2 - sont connues pour causer un syndrome de prédisposition aux cancers de transmission autosomique dominante : le syndrome de Lynch. Les patients atteints de syndrome de Lynch ont un risque important de développer des cancers colo-rectaux et/ou gynécologiques (endomètre, ovaire), typiquement dans la quatrième ou cinquième décennie de vie. Plus récemment ont été décrits des patients avec des mutations bi-alléliques, homozygotes ou hétérozygotes composées, des gènes MMR aboutissant à un déficit constitutionnel complet de l'une de ces protéines (CMMRD - Constitutional MMR Deficiency). Ces patients développent à un âge précoce des cancers, notamment hématologiques, osseux et cérébraux, pouvant faire discuter un syndrome de Li-Fraumeni. Peuvent également s'associer des signes cutanés à type de macules « café-au-lait » ou d'autres signes habituellement associés à la neurofibromatose de type 1. Différentes revues de la littérature évoquent l'existence possible de phénotypes différents chez ces patients, pouvant associer des tumeurs hématologiques, osseuses et/ou cérébrales dans la première ou deuxième décennie de vie ou des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch, notamment gastro-intestinales, dans la seconde ou troisième décennie de vie.

Nous rapportons l'histoire de deux sœurs jumelles monozygotes, présentant une inactivation bi-allélique du gène PMS2. Ces deux patientes ont un phénotype très différent : la première, décédée à treize ans, a présenté un ostéosarcome ostéoblastique à l'âge de 11 ans, puis une tumeur glioneuronale maligne à l'âge de 13 ans ; la seconde a présenté un adénocarcinome colique à l'âge de 21 ans. Au niveau familial, la grand-mère paternelle a présenté un cancer de l'endomètre et un cancer du sein, et deux tantes maternelles ont développé un cancer du sein. Les parents n'ont pas d'antécédent personnel de cancer. La tumeur colique qu'a développé la seconde des sœurs jumelles présentait un phénotype MSI, ainsi qu'une extinction isolée et complète de la protéine PMS2 dans le tissu tumoral et dans le tissu sain péri-tumoral à l'immunohistochimie. Ce résultat est en faveur d'une fonction résiduelle nulle, ou extrêmement faible. Au niveau moléculaire, deux mutations ont été identifiées. La première mutation, p.Ile611Asnfs\*2, est une mutation clairement délétère. La seconde, p.Ile54Thr, est une mutation faux-sens, jamais rapportée dans la littérature mais prédite comme délétère par les études *in silico*. L'enquête familiale a permis de confirmer que les deux mutations sont situées sur deux allèles différents.

Nous rapportons donc deux patientes, sœurs jumelles, ayant un génotype identique et présentant un phénotype différent, allant à l'encontre d'une contribution systématique de gènes modificateurs dans la variabilité phénotypique.

**Mots-clefs :** Déficit congénital complet en protéine MMR, Soeurs jumelles monozygotes, Phénotype tumoral différent

## Oncogénétique

**B095/#277**

### Neurofibromatose et déficits cognitifs : étude chez 7 patients rémois.

Audrey LANNOY (1), Dominique GAILLARD (1), Ziad REGUIAI (2), Nathalie BEDNAREK (3), Pascal SABOURAUD (4), Marie-Pierre CHAUNU (5), Michel VIDAUD (6), Emilie LANDAIS (1), Martine DOCO-FENZY (1)

1. Génétique, CHU Reims, Reims, France
2. Dermatologie, CHU Reims, Reims, France
3. Pédiatrie B, CHU Reims, REIMS, France
4. Pédiatrie A, CHU Reims, REIMS, France
5. Neurologie, CHU Reims, REIMS, France
6. Biochimie, Hôpital Beaujon, Clichy, France

**Auteur correspondant :** LANNOY Audrey (lannoy.audrey@yahoo.fr)

La neurofibromatose (NF1) est une maladie génétique fréquente caractérisée par diverses atteintes cutanées, neurologiques et néoplasiques. Il est désormais bien décrit que les patients atteints de NF1 ont un risque plus important de présenter des déficits cognitifs et des troubles de l'apprentissage.

Nous avons recensé les patients ayant eu un diagnostic clinique de neurofibromatose à Reims entre 2010 et 2013. Parmi ces 55 patients, 7 présentaient une déficience intellectuelle ou un retard de développement (12,7%) avec un ratio de 4 garçons pour 3 filles. L'âge moyen à la marche pour ces 7 patients est de 18,2 mois (13-21 mois), et tous ont présenté des troubles du langage à type de retard de langage ou de troubles de l'élocution. Ces patients présentent également des troubles de la motricité globale et de la motricité fine (4/7). Tous ont eu des difficultés scolaires : pour 60% [3/5] d'entre eux, dès la primaire, 2/3 n'ont pas obtenu leur BEP et 50% [3/6] d'entre eux ont été pris en charge en établissement spécialisé. Les difficultés touchent tous les domaines scolaires (mathématiques, lecture, écriture) mais la mémorisation et la compréhension des consignes semblent préservées. Cependant, 66% [4/6] de ces patients ne sont pas autonomes. Enfin, un seul patient a présenté des crises d'épilepsie et aucune malformation cérébrale n'a été retrouvée. D'un point de vue dermatologique, 100% présentent des taches café au lait et des lentigines et on retrouve des neurofibromes chez tous les patients post-pubères. Les corrélations potentielles entre les différents phénotypes de ces patients et le type d'anomalie du gène NF1 seront détaillées dans la présentation.

Cette étude confirme donc la proportion importante de déficits cognitifs chez les patients atteints de NF1 et suggère l'importance d'une prise en charge adaptée des enfants diagnostiqués et ce dès le plus jeune âge, ainsi qu'un conseil génétique adapté.

**Mots-clefs :** Neurofibromatose, NF1, Déficience Intellectuelle, 17q11.2



## Oncogénétique

**B096/#281**

### Première famille française de polypose adénomateuse familiale liée à une mutation du gène AXIN2

Hélène Delhomelle (1), Marie Pierre Buisine (2), Julie Leclerc (2), Jérôme Bellanger (3), Gilles Rapoport (4), Nicolas Carbonell (5), Yann Parc (6), Jean-François Fléjou (7), Christilla Boucher (1), Chrystelle Colas (8)

1. Consultation d'oncogénétique-Service de chirurgie générale et digestive, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
2. Oncologie et Génétique Moléculaires, CHRU de Lille, UMR Inserm 837 et Université de Lille Nord, Lille, France
3. Service de gastroentérologie, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
4. Service de gastroentérologie, Clinique du Louvre, Paris, France
5. Service hépatologie-unité de soins intensifs, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
6. Service de chirurgie générale et digestive, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
7. Service d'anatomie pathologique, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
8. Département de génétique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** DELHOMELLE Hélène  
(helene.delhomelle@gmail.com)

La polypose adénomateuse familiale dans sa forme classique est le plus souvent due à une mutation du gène APC transmise sur un mode autosomique dominant. Depuis 2002, le gène MUTYH a également été impliqué dans cette pathologie avec des mutations bialléliques et une transmission autosomique récessive.

Des mutations trouquantes du gène AXIN2, un intervenant de la voie WNT comme le gène APC, ont été rapportées pour la première fois en 2004 dans deux familles présentant une polypose adénomateuse et des anomalies dentaires à type d'oligodontie (perte de six dents définitives ou plus. Ce gène avait été exploré en 2006 dans une série française de 39 patients présentant une polypose génétiquement inexplicable sans qu'une mutation ne soit mise en évidence, ce qui souligne la rareté de son implication.

Nous décrivons ici la première famille française de polypose adénomateuse liée à une mutation d'AXIN2. Le cas index est un homme de 37 ans, qui a réalisé une première coloscopie de dépistage en raison d'antécédent de cancer colique sur polypose chez son père, aujourd'hui décédé. Cet examen a mis en évidence dix polypes adénomateux tubuleux et tubulovilleux infracentimétriques en dysplasie de bas grade répartis du sigmoïde au caecum. A l'interrogatoire, le patient signalait une agénésie de 11 dents. Son père avait également été pris en charge pour une agénésie dentaire. Une analyse complète du gène AXIN2 a mis en évidence la mutation c. 2092G>T ; p.Glu698\* chez notre patient. Une coloscopie de contrôle ayant retrouvé une cinquantaine de petites lésions adénomateuses tubuleuses en dysplasie de bas grade, une colectomie totale a été proposée au patient. Deux autres contrôles endoscopiques ont été effectués et ont confirmé l'aspect de polypose déjà décrite, prédominant sur le côlon droit et préservant le rectum, et ne n'ont pas retrouvé d'atteinte duodénale et papillaire.

Dans la littérature seules 8 familles présentant une mutation d'AXIN2 ont été décrites, avec un mode de transmission autosomique dominant. Dans toutes les familles sauf une, les porteurs de la mutation, présentent des anomalies dentaires, plus ou moins importantes (l'atteinte pouvant aller d'une dent manquante au seul développement de trois dents définitives). L'atteinte colique semble également avoir une pénétrance élevée mais avec une grande variabilité d'expression intra et interfamiliale. Une dysmorphie faciale, des fentes labiopalatines, des mélanomes et des signes de dysplasie ectodermique ont également été décrits, mais ils n'ont pas été retrouvés chez notre cas index.

En conclusion, l'analyse du gène AXIN2 se justifie dans l'exploration des polyposes adénomateuses classiques ou atténuées : d'emblée en cas d'agénésie dentaire ou si aucune mutation n'est identifiée sur les gènes plus fréquemment impliqués. Son intégration dans les panels de gènes pour l'exploration des prédispositions aux cancers digestifs en séquençage nouvelle génération est certainement à considérer.

**Mots-clés :** AXIN2, Polypose adénomateuse, agénésie dentaire

## Oncogénétique

**B097/#310**

### Phénotype clinique et histologique des cancers du sein chez les femmes avec un syndrome de Li-Fraumeni

Chloé Broudin (1), Patrick Benusiglio (1), Delphine Wehrer (1), Laurence Brugières (2), Suzette Delaloge (1), Catherine Noguès (3), Laurence Faivre-Olivier (4), Dominique Stoppa-Lyonnet (5), Isabelle Mortemousque (6), Thierry Frébourg (7), Julie Tinat (7), Gaëlle Bougeard (7), Olivier Caron (1)

1. oncogénétique, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. oncopédiatrie, Gustave Roussy, Villejuif, France
3. oncogénétique, Institut Curie, Saint Cloud, France
4. oncogénétique, Hôpital du Bocage, Dijon, France
5. oncogénétique, Institut Curie, Paris, France
6. oncogénétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
7. oncogénétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Broudin Chloé (chloe.broudin@gmail.com)

#### Introduction

Le syndrome de Li Fraumeni (LFS) est associé à des mutations constitutionnelles de TP53, et les patients atteints sont à risque élevé de développer des cancers de types divers tout au long de leur vie. Le risque oncologique est particulièrement frappant chez les femmes puisque 84% d'entre elles développent par exemple un cancer avant 45 ans, les cancers du sein (CS) en représentant la majorité. Outre la survenue à un jeune âge, les CS associés au LFS ont la particularité d'être plus souvent HER2+ comparé à ceux survenant dans la population générale. Dans ce travail, nous décrivons les caractéristiques cliniques et histologiques d'une grande série de CS diagnostiqués chez des patientes avec un LFS.

#### Méthodes

Nous avons étudié rétrospectivement les dossiers des patientes LFS ayant développé au moins un cancer du sein de type adénocarcinome, et dont les familles ont été vues à Gustave Roussy entre 1982 et 2013. Les patientes correspondent à des cas index dont la mutation a été identifiée suite au diagnostic oncologique, ou à des porteuses chez qui la surveillance mammaire a permis de trouver un cancer. Le diagnostic de LFS a été posé suite à l'identification d'une mutation de TP53 par séquençage et QMPSF, ou rarement sans analyse chez des porteuses obligatoires.

#### Résultats

Nous avons répertorié 23 familles LFS avec au moins un antécédent de CS. Au total, on a retrouvé 40 CS chez 31 patientes. L'âge médian de survenue était de 31 ans, avec des âges allant de 21 à 66 ans. 33 tumeurs étaient de type canalaire (85%), invasives pour la plupart, une tumeur était de type lobulaire, et 6 étaient d'histologie inconnue. 30 tumeurs étaient de grade 2 ou 3 (75%), alors que seulement 2 (5%) étaient de grade 1, le grade étant inconnu pour les 8 autres. Des données immunohistochimiques complètes n'étaient disponibles que pour 19 tumeurs. Parmi celles-ci, 14 (74%), 11 (58%) et 8 (42%) étaient positives respectivement pour les récepteurs à l'œstrogène, à la progestérone, et pour HER2.

Dans les 23 familles étudiées, 7 cas index ne remplissaient pas les critères de Chompret 2009 au moment du diagnostic de LFS. 3 avaient présenté uniquement un CS sporadique avant 35 ans (bilatéral pour une patiente). Les 4 autres avaient, en plus de l'antécédent mammaire, un antécédent personnel ou familial de tumeur hors-spectre LFS tel que défini dans les critères, avec pour 2 d'entre elles également une histoire familiale de CS.

#### Conclusion

Notre série est l'une des plus grandes jamais rapportée. Comme précédemment décrit par d'autres auteurs, les tumeurs mammaires survenant dans un contexte de LFS sont plus souvent HER2+ que ce qui est vu dans la population générale. Notre série rappelle aussi que le syndrome doit être parfois évoqué même quand les critères de Chompret ne sont pas remplis, notamment chez des jeunes patientes avec un CS sporadique à un très jeune âge, ou avec en plus de leur CS, une histoire personnelle ou familiale oncologique inhabituelle.

**Mots-clés :** Syndrome de Li Fraumeni, Cancer du sein, TP53

## Oncogénétique

B098/#320

### Mise en place d'un questionnaire de suivi à 6 mois des femmes asymptomatiques porteuses d'une mutation délétère du gène BRCA1 ou BRCA2

Ophélie Bertrand (1), Audrey Mailliez (1), Alexandre Mawart (2), Sandrine Giscard (2), Claude Adenis (1)

1. Département de cancérologie sénologique, Centre Oscar Lambret, Lille, France
2. Direction Qualité-Gestion des risques, Centre Oscar Lambret, Lille, France

**Auteur correspondant :** Bertrand Ophélie (o-bertrand@o-lambret.fr)

En 2012, au Centre Oscar Lambret, une mutation délétère du gène BRCA1 ou BRCA2 a été identifiée chez 96 patientes (ptes) asymptomatiques.

Nous souhaitons nous assurer de la mise en place d'un suivi adapté chez ces femmes suite à l'annonce du résultat.

**Matériels et Méthodes**

Nous avons adressé, aux ptes mutées asymptomatiques identifiées entre juillet 2011 et juillet 2012, un questionnaire s'articulant autour de trois axes principaux: prévention et dépistage, retentissement psychosocial, souhaits et suggestions éventuels à six mois du rendu de résultat génétique.

**Résultats**

Trente-huit ptes, dont l'âge moyen est de 33,3 ans, ont retourné le questionnaire (24 BRCA1, 14 BRCA2).

Près de la moitié des ptes (N=17/37) avait réalisé une IRM mammaire dans les six mois suivant le rendu de résultat.

Par ailleurs, 30% des ptes (N=11/37) avaient réalisé une mammographie complémentaire. Ce résultat, distinct de celui observé pour l'IRM, était concordant avec l'âge des consultant, la plupart étant trop jeunes pour envisager cet examen.

Dix-sept ptes (46%) répondaient avoir réfléchi à l'éventualité d'une chirurgie préventive mammaire. Parmi celles-ci, une avait déjà été opérée et huit envisageaient dans les prochains mois.

Une minorité de ptes (N=9/38) était concernée dans l'immédiat par l'annexectomie bilatérale prophylactique. Parmi celles-ci, trois ne s'étaient pas encore rapprochées d'un chirurgien (l'une soulignant avoir peur des conséquences d'une ménopause précoce, les deux autres étant quant à elles en attente des résultats histologiques suite à une biopsie mammaire).

Moins de 10% des femmes ayant retourné le questionnaire déclaraient bénéficier d'un suivi psychologique régulier depuis l'annonce du résultat. Deux femmes songeaient à la mise en place éventuelle d'un suivi et disposaient pour cela des coordonnées des psychologues du Centre mais mentionnaient n'avoir pas encore pris le temps de les contacter. Trois personnes ignoraient vers quel professionnel se tourner.

Six femmes (17%) souhaitaient être recontactées par le service de génétique et trois parmi celles n'ayant pas de suivi psychologique sollicitaient un rendez-vous en psycho-oncologie.

**Conclusion**

Nous avons pu observer, à travers les réponses apportées par ces femmes, que la majorité d'entre elles avait compris les informations reçues lors de la consultation de rendu de résultat et mettait en place une conduite à tenir adaptée à leur situation personnelle. Néanmoins, l'envoi de ce questionnaire nous aura permis d'identifier certaines femmes pour qui la seule consultation de rendu de résultat s'avérait insuffisante. Depuis cette étude, nous avons instauré une consultation de suivi systématique dans les mois qui suivent pour remettre le résultat définitif, répondre aux interrogations éventuelles et réajuster si nécessaire la prise en charge de ces ptes.

**Mots-clés :** BRCA1, BRCA2, mutation, suivi

## Oncogénétique

B099/#324

### Phare Grand Ouest : premiers résultats de l'expérience pilote de prise en charge multidisciplinaire des personnes à haut risque de cancer

Charlotte HUET (1), Anne-Cécile EGAULT (1), Catherine DUGAST (2), Nathalie BLANCHARD (2), Olivier INGSTER (3), Marion BELLEGUIC (4), Alain LORTHOLARY (5), Paul GESTA (6), Anne CAROFF (7), Isabelle MORTEMOSQUE (8), Hubert JOURNEL (9)

1. Phare Grand Ouest, Centre Eugène Marquis, RENNES, France
2. Oncogénétique, Centre Eugène Marquis/CHU, RENNES, France
3. Génétique, ICO Paul Papin/CHU, ANGERS, France
4. Oncogénétique, ICO René Gauducheau, NANTES, France
5. Oncogénétique, Centre Catherine de Sienne, NANTES, France
6. Oncogénétique, Centre Hospitalier, NIORT, France
7. Génétique, CHU, BREST, France
8. Génétique, CHU, TOURS, France
9. Génétique, Centre Hospitalier Bretagne Atlantique, VANNES, France

**Auteur correspondant :** HUET Charlotte (charlotte\_huet@yahoo.fr)

Le groupe Phare Grand Ouest (PGO), financé pour sa phase pilote dans le cadre de l'appel à projets INCa 2009-2011, regroupe 8 équipes d'oncogénétique de 4 régions : Bretagne, Centre, Pays de la Loire et Poitou-Charentes et une équipe de coordination inter-régionale. Son objectif est de coordonner et améliorer la prise en charge multidisciplinaire des personnes ayant une prédisposition génétique aux cancers du sein ou des ovaires (porteuses d'une mutation constitutionnelle délétère (MCD) des gènes BRCA1 ou BRCA2 ou présentant un risque de cancer du sein > 20% selon le logiciel BOADICEA) ou aux cancers digestifs (syndrome de LYNCH avec mutation sur un gène MMR identifiée). Après recueil du consentement écrit, un programme personnalisé de suivi (PPS) est élaboré par l'équipe de coordination puis validé par l'oncogénéticien référent. La validation repose sur un enregistrement par application du référentiel rédigé par le groupe ou sur la discussion du dossier en RCP, obligatoire en cas d'indication de chirurgie prophylactique. Un système d'information développé spécifiquement (Voozano/Epiconcept) permet un rappel par courrier des rendez-vous d'examen de suivi programmés suivant la périodicité définie dans le PPS et des relances en cas de non retour des comptes-rendus d'examen. D'octobre 2010 à septembre 2013, 1402 personnes (88 % de femmes, âge moyen de 48 +/- 13 ans) ont signé un consentement de participation et présentent soit une MCD du gène BRCA1 (516) ou BRCA2 (397), soit un haut risque de cancer sans mutation BRCA identifiée (151), soit un syndrome de Lynch (338). Actuellement, 651 patients ont un dossier complet avec PPS validé. Chez 50 % des femmes suivies pour prédisposition aux cancers du sein ou des ovaires, une annexectomie bilatérale prophylactique a été effectuée. Une mastectomie prophylactique bilatérale ou controlatérale a été réalisée chez 36 femmes. Parmi les femmes porteuses d'une mutation d'un gène MMR, 14 % ont effectué une hystérectomie avec ovariectomie prophylactique. Le suivi PGO a été suspendu pour surveillance radiologique ou endoscopique particulière (13), pour nouvelle localisation ou récurrence tumorale (15), ou pour une grossesse en cours (5). Le suivi PGO a été clôturé soit après une chirurgie prophylactique complète (mammaire et ovarienne) (8), soit en raison d'une évolution défavorable (survenue de métastases, décès) (3) ou d'un refus du suivi (4). Une action a également été menée auprès des 900 radiologues agréés dans l'inter-région pour le dépistage organisé du cancer du sein afin d'améliorer l'accès à l'IRM mammaire. Un comité de pilotage regroupant 37 radiologues volontaires a validé des recommandations de pratiques communes et des critères de qualité de prise en charge radiologique mammaire des femmes à haut risque et 129 radiologues ont accepté de participer à ce réseau. Sur le modèle du réseau de radiologues, nous avons prévu d'établir un partenariat avec les gastro-entérologues volontaires de l'inter-région.

**Mots-clés :** BRCA1/2, syndrome de LYNCH, dépistage

## Oncogénétique

**B100/#372**

### Diagnostic fortuit d'Anémie de Fanconi avec mutation bi-allélique du gène FANCD1/BRCA2 associée à la survenue précoce de cancers colorectaux.

Emilie Degrolard-Courcet (1), Joanna Sokolowska (2), Marie-Martine Padeano (3), Séverine Guiu (4), Myriam Bronner (5), Carole Carole Chery (6), Fanny Coron (7), Côme Lepage (8), Caroline Chapusot (9), Catherine Loustalot (3), Jean-Louis Jouve (8), Cyril Hatem (10), Emmanuelle Ferrant (11), Laurent Martin (9), Charles Coutant (3), Gérard Couillault (12), Alexandra Delignette (13), Salima El Chehadeh (14), Sarab Lizard (15), Laurent Arnould (16), Pierre Fumoleau (4), Patrick Callier (17), Francine Mugneret (17), Christophe Philippe (6), Thierry Frebourg (18), Philippe Jonveaux (6), Laurence Faivre (14)

1. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Pole Technique et biologie, CHU Dijon, DIJON, France
2. Laboratoire de Génétique, CHU Nancy, nancy, France
3. Département de Chirurgie, Centre de lutte anti-cancereux Georges François Leclerc, DIJON, France
4. Département d'oncologie médicale, Centre de lutte anti-cancereux Georges François Leclerc, DIJON, France
5. Laboratoire de Génétique, CHU, Nancy, France
6. Laboratoire de Génétique, CHU Nancy, Nancy, France
7. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, DIJON, France
8. Service d' Hepato-gastro-enterologie, CHU "Bocage Central", DIJON, France
9. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Pole Technique et biologie, CHU, DIJON, France
10. Hepato-gastro-entérologie, Clinique Drevon, DIJON, France
11. Service d'Hématologie Clinique, Hôpital d'Enfants, CHU, DIJON, France
12. Service de Pédiatrie 1, Hôpital d'Enfants, CHU, DIJON, France
13. Service de Radiologie, Centre de lutte anti-cancereux Georges François Leclerc, DIJON, France
14. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU, DIJON, France
15. Biologie Moléculaire, Centre de lutte anti-cancereux Georges François Leclerc, DIJON, France
16. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Centre de lutte anti-cancereux Georges François Leclerc, DIJON, France
17. Service de Cytogénétique, Pole Technique et biologie, CHU, DIJON, France
18. Inserm U1079 et Département de Génétique, CHU, Rouen, France

**Auteur correspondant :** FAIVRE Laurence (laurence.faivre@chu-dijon.fr)

L'Anémie de Fanconi (FA) est une maladie génétique caractérisée par une insuffisance médullaire progressive, des anomalies congénitales et un risque augmenté de cancer. Plusieurs gènes sont à l'origine de ce syndrome mais la mutation bi allélique du gène FANCD1/BRCA2 ne concerne seulement qu'une faible proportion de patients atteints de cette maladie. Les patients de ce groupe ont un phénotype plus sévère avec une incidence accrue de leucémie ou de certaines tumeurs solides qui surviendraient de surcroît plus précocement, avec un décès fréquent à un âge pédiatrique. Nous décrivons dans cette étude les caractéristiques cliniques et moléculaires d'une famille chez qui le diagnostic d'anémie de Fanconi a été porté de façon fortuite chez une femme jeune atteinte d'un cancer du sein. De façon remarquable, cette femme et sa sœur, également atteinte, sont nées sans anomalies morphologiques évidentes. Elles n'ont pas souffert d'insuffisance médullaire ni de cancer jusqu'à l'âge de 30 ans environ, où elles ont présenté un ou plusieurs cancers colorectaux (CCR) (microsatellite stable) associés à un lymphome gastrique pour l'une et à un cancer du sein pour l'autre. La jumelle d'une de ces 2 sœurs est décédée d'une leucémie myéloïde aigüe à l'âge de 5 ans. Nous avons identifié chez les 2 sœurs vivantes, une mutation bi allélique de BRCA2, comprenant une mutation avec décalage du cadre de lecture (c.1845\_1846delCT, p.Asn615Lysfs\*6) et une mutation faux sens (c.7802A>G, p.Tyr2601Cys). Le diagnostic de FA a été confirmé par la mise en évidence d'instabilités chromosomiques spontanées ou induites par la mitomycine, pathognomoniques de FA. Une analyse par RT-PCR a révélé que la variation c.7802A>G conduisait à la création d'un site aberrant d'épissage. Cette protéine pourrait entrainer une activité résiduelle et expliquer le diagnostic retardé de FA chez les 2 sœurs. L'absence de signes cardinaux de la maladie de Fanconi et la survenue de plusieurs CCR chez ces sœurs semble évoquer la présence de subtiles anomalies dans la machinerie d'épissage qui

seraient à l'origine d'une variabilité et tissu-spécificité du phénotype. Une interaction entre BRCA2 et la voie MMR pourrait être également discutée devant la survenue précoce d'adénocarcinomes colorectaux dans cette famille.

**Mots-clés :** mutation bi allélique deBRCA2, cancer colorectal, anémie de Fanconi

## Oncogénétique

**B101/#383**

### Evaluation de l'IRM corps entier pour la détection précoce des cancers chez les sujets porteurs de mutation constitutionnelle du gène TP53 (étude Lifscreen)

Olivier Caron (1), Thierry Frébourg (2), Emmanuelle Barouk-Simonet (3), Patrick Benusiglio (4), Valérie Bonadona (5), Emmanuelle Bourbonloux (6), Nathalie Chabbert-Buffet (7), Hélène Dreyfus (8), Catherine Dugast (9), François Eisinger (10), Viviane Feillel (11), Sophie Julia (12), Christine Lasset (5), Véronique Mari (13), Christine Maugard (14), Marion Gauthier-Villars (15), Sophie Lejeune-Dumoulin (16), Catherine Nogues (17), Pascal Pujol (18), Caroline Abadie (19), Carole Coze (20), Elisabeth Luporsi (21), Laurence Olivier-Faivre (22), Paul Gesta (23), Pascaline Berthet (24), Yves-Jean Bignon (25), Bruno Buecher (15), Isabelle Coupiet (26), Capucine Delnatte (27), Alejandra Cano (28), Claire Guillemeau (28), Agnès Laplanche (29), Sandra Canale (30), Laurence Brugères (31)

1. Département de Médecine Oncologique, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Service de Génétique, CHU, Rouen, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux, France
4. Département d'Oncologie, Gustave Roussy, Villejuif, France
5. CNRS UMR 5558, Centre Léon Bérard, Lyon, France
6. Département d'Oncologie, Institut de Cancérologie de l'Ouest, Nantes, France
7. Gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction, AP-HP Hôpital Tenon, Paris, France
8. Consultation d'oncogénétique, Institut Sainte Catherine, Avignon, France
9. Consultation d'oncogénétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
10. Département d'oncologie génétique, prévention et dépistage, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
11. Consultation d'oncogénétique, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France
12. Service de Génétique, CHU Purpan, Toulouse, France
13. Service d'Oncologie, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
14. Département d'Oncologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
15. Département de génétique, Institut Curie, Paris, France
16. Service de Génétique, Chru Jeanne de Flandres, Lille, France
17. Service d'Epidémiologie Clinique et d'Information Médicale, Oncogénétique Clinique, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France
18. Service de génétique médicale et chromosomique - Unité d'oncogénétique, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
19. Consultation d'oncogénétique, CHU, Rennes, France
20. Service d'oncologie pédiatrique, CHU La Timone, Marseille, France
21. Service de médecine oncologique, Centre Alexis Vautrin, Nancy, France
22. Service de Génétique, CHU, Dijon, France
23. Service d'oncologie, Centre Hospitalier Général, Niort, France
24. Service d'oncologie génétique, Centre François Baclesse, Caen, France
25. Laboratoire d'oncologie moléculaire, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
26. Consultation d'oncogénétique, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
27. Consultation d'oncogénétique, Institut de Cancérologie de l'Ouest, Nantes, France
28. DISSPO, Gustave Roussy, Villejuif, France
29. Service de Biostatistiques, Gustave Roussy, Villejuif, France
30. Département d'Imagerie, Gustave Roussy, Villejuif, France
31. Département de pédiatrie, Gustave Roussy, Villejuif, France

**Auteur correspondant :** Caron Olivier (olivier.caron@gustaveroussy.fr)

Les porteurs de mutation constitutionnelle du gène TP53 ont une augmentation majeure du risque de cancer. Le spectre tumoral est particulièrement large (risque de cancer du sein, sarcome, tumeur cérébrale, leucémie...). La surveillance de ces personnes est particulièrement complexe, notamment concernant le dépistage des sarcomes. Les recommandations en vigueur, rédigées en 2001,



préconisent une surveillance clinique seule et radio-clinique pour les seins. Après 10 ans d'application, ces recommandations ont montré leurs limites et ne semblent satisfaisantes ni pour les familles, ni pour les praticiens. Le Groupe national Li Fraumeni souhaite améliorer ces recommandations. Le développement récent de l'IRM corps entier pourrait contribuer à améliorer le dépistage dans ce contexte. En outre, certaines données laissent penser que les cellules normales de ces porteurs sont particulièrement sensibles aux radiations ionisantes, limitant l'utilisation de la radiologie conventionnelle et des scanners. Afin d'élaborer de nouvelles recommandations, l'étude LIFSCREEN a été conçue pour évaluer l'utilité de l'IRM corps entier.

Cette étude multicentrique ouverte, randomisée, évalue l'efficacité et l'acceptabilité de deux schémas de surveillance, ne comportant aucun examen irradiant. Dans le bras « standard », les sujets inclus réalisent un examen clinique, une échographie abdomino-pelvienne, une IRM cérébrale, une numération-formule sanguine, une IRM mammaire et une échographie mammaire (selon l'âge), à trois reprises à un an d'intervalle. Dans le bras expérimental, les sujets suivent le même programme, complété par une IRM corps entier de diffusion. A chaque étape, la qualité de vie et l'impact psychologique sont évalués par des auto-questionnaires (SF36 ; HADS, TAS20, CBCL, CDI, R-CMAS) et des entretiens semi-dirigés. Dans la perspective d'études ancillaires ultérieures, des sérums sont collectés séquentiellement. Le nombre attendu de sujets par bras est de 50.

Critères d'inclusion : toute personne porteuse d'une mutation constitutionnelle de TP53, avec ou sans antécédent de cancer, âgée de plus de 5 ans et moins de 71 ans. Le suivi potentiel doit être d'au moins 3 ans. Les patients en cours de chimiothérapie ne sont pas incluables.

Le critère de jugement principal sera l'incidence des cancers à 3 ans. La sensibilité et la spécificité de chaque examen sera étudiée indépendamment. Le second critère de jugement sera l'acceptabilité dans chaque bras, évaluée par les réponses aux auto-questionnaires. Enfin, le suivi prospectif d'un grand nombre de sujets porteurs permettra d'affiner le spectre et l'évaluation des risques tumoraux dans les familles Li Fraumeni.

Le recrutement, débuté en décembre 2011, se prolongera jusqu'en mai 2015. A ce jour, 63 sujets ont été inclus par 15 centres. 49 personnes ont réalisé au moins la première étape et 15 la deuxième. Nous présenterons en détail l'étude, de même que les caractéristiques de la population déjà incluse.

**Mots-clefs :** Li Fraumeni, TP53, surveillance

## Oncogénétique

B102/#389

### Apport du séquençage de nouvelle génération dans le diagnostic moléculaire oncogénétique: l'expérience de l'Institut Bergonié

Delfine LAFON (1), Jennifer DUPIOT-CHIRON (2), Christophe HUBERT (2), Bernadette GASTALDELLO (1), Natalie JONES (3), Marc DEBLED (4), Christine TUNON de LARA (5), Michel LONGY (3), Françoise BONNET (3), Nicolas SEVENET (3)

1. Unité d'Oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
2. Plateforme Génome-Transcriptome, CGFB, Université de Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
3. Unité d'Oncogénétique & INSERM U916, Institut Bergonié, Bordeaux, France
4. Département d'Oncologie Médicale, Institut Bergonié, Bordeaux, France
5. Département de chirurgie, Institut Bergonié, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** SEVENET Nicolas (n.sevenet@bordeaux.unicancer.fr)

#### Introduction

L'absence de mutations récurrentes dans les gènes impliqués dans les prédispositions héréditaires ou les formes familiales de cancer ainsi que la description croissante de nouveaux gènes de prédisposition, plus rarement impliqués, constituent le rationnel de l'utilisation du séquençage de nouvelle génération (NGS) en oncogénétique. Cette technologie combine deux avantages, une approche globale, permettant un séquençage d'un grand nombre de gènes simultanément, et une composante quantitative, autorisant notamment la caractérisation de mosaïcismes constitutionnels.

#### Matériel & Méthodes

Une banque de capture sous forme d'oligonucléotides couvrant les 451 exons (avec les jonctions intron-exon) de 25 gènes impliqués dans la prédisposition héréditaire aux cancers du sein et/ou des ovaires, ainsi que les cancers colorectaux héréditaires non polyposiques, la maladie de Cowden et le syndrome de Gorlin, a été construite à l'aide du logiciel SureDesign d'Agilent technologie. Les paramètres de design utilisés ont compris la version 62 d'Ensembl genome, le repeatmasker standard d'UCSC, une couverture de capture de 2X. Cela a permis de générer 2666 oligonucléotides uniques de 120-mers répliqués de 19 à 38 fois selon le pourcentage de GC et la taille des régions cibles (on-target). Dans une phase de validation du NGS en routine diagnostique, les échantillons d'ADN constitutionnel de 140 patientes ont été soumis à cette banque de capture selon le protocole d'Agilent puis séquencés sur un MiSeq (Illumina). En parallèle, ces échantillons ont été étudiés pour les gènes d'intérêt par les techniques classiques de criblage associant EMMA et QMP5F.

#### Résultats

Toutes les mutations ponctuelles détectées par EMMA l'ont été par NGS. De plus, des mutations ponctuelles siégeant dans des régions difficiles à séquencer ont été détectées uniquement par NGS. Enfin, plus de 500 nouveaux polymorphismes ont été caractérisés de même que des mutations dans les gènes supplémentaires explorés. Par ailleurs, l'approche NGS permet l'identification d'un statut homozygote pour les SNP communs ce que ne permettent pas les techniques de criblages fondées sur la détection d'hétéroduplex. Désormais, depuis mars 2013, le NGS est la seule méthode de détection des variants au laboratoire d'oncogénétique de l'Institut Bergonié. L'ensemble de la préparation expérimentale pour les séries d'échantillons ainsi que l'architecture d'analyse bio-informatique seront présentés

**Mots-clefs :** NGS, BRCA, Prédisposition



## Oncogénétique

B103/#390

### Etude des altérations génétiques et épigénétiques chez des patients atteints de tumeurs avec instabilité microsatellitaire et sans mutation germinale des gènes MMR identifiée

Francoise Bonnet (1), Marie-Pierre Buisine (2), Julie Leclerc (2), Delfine Lafon (3), Bernadette Gastaldello (3), Isabelle Hostein (4), Virginie bubiën (1), Laurence Venat (5), Yves Bécouarn (6), Eglantine Jolly (3), Michel Longy (1), Nicolas Sevenet (1), Isabelle Soubeyran (7), Emmanuelle Barouk-Simonet (3)

1. Génétique Constitutionnelle - U916, Institut Bergonie, Bordeaux, France
2. Pole de biochimie et biologie moléculaire, CHRU, Lille, France
3. Génétique Constitutionnelle, Institut Bergonie, Bordeaux, France
4. Pathologie moléculaire, Institut Bergonie, Bordeaux, France
5. Oncologie médicale, CHU - Hôpital Dupuytren, Limoges, France
6. Oncologie médicale, Institut Bergonie, Bordeaux, France
7. Pathologie moléculaire - U916, Institut Bergonie, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Barouk-Simonet Emmanuelle  
(e.barouksimonet@bordeaux.unicancer.fr)

Le syndrome de Lynch est une prédisposition héréditaire au cancer colorectal (CCR) et de l'endomètre avec un âge moyen de survenue précoce de 43 ans. Il est classiquement lié à une mutation germinale des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR : Mismatch Repair). Il se traduit par un phénotype tumoral RER (Replicative Error) positif avec instabilité microsatellitaire de type MSI high et une absence de détection immunohistochimique de la protéine MMR déficiente (MLH1, MSH2, MSH6 ou PMS2). Cependant dans 1/3 des cas, aucune mutation germinale des gènes MMR n'est identifiée. Ce phénotype tumoral peut s'observer également dans 15% des CCR sporadiques, plus spécifiquement chez le sujet âgé, en relation avec une hyperméthylation somatique du promoteur du gène MLH1.

Nous avons réalisé une étude rétrospective portant sur 316 patients ayant bénéficié d'une consultation d'oncogénétique, d'une recherche de mutation germinale des gènes MMR et d'un phénotypage tumoral. Des résultats avec test RER positif sans mutation germinale MMR identifiée ont été retrouvés chez 74 patients (24%) dont l'âge moyen est de 50 ans. La cause de cette discordance est probablement hétérogène: 1) l'existence d'une pathologie acquise à un âge plus précoce ; 2) l'existence de mutation germinale des gènes MMR non identifiée par défaut de sensibilité de la méthode de criblage utilisée ou du fait d'un autre mécanisme d'inactivation.

Dans un premier temps, l'existence d'une pathologie acquise a été explorée chez les 44 patients avec un phénotype MSI et perte du dimère MLH1-PMS2. Une hyperméthylation somatique du promoteur du gène MLH1 a été retrouvée chez 1/3 d'entre eux (14 patients, âge moyen de 56 ans). Parallèlement, l'existence d'une hyperméthylation germinale de ce promoteur a été recherchée sans altération épigénétique identifiée. Il se dégage donc un ensemble de 60 patients avec un phénotype MSI sans cause identifiée dont l'âge moyen est de 48 ans. On y distingue 2 groupes cliniques : le 1er comportant 43 patients (72%) présentant des critères cliniques de prédisposition héréditaire (critères d'Amsterdam, CCR avant 40 ans isolé sur le plan généalogique ou tumeurs primitives multiples) et le 2ème comportant 17 patients (28%) plutôt évocateur d'une survenue sporadique (CCR après 50 ans sans signe de prédisposition).

Dans un second temps, pour ce groupe de 43 patients suspect d'une prédisposition héréditaire, l'hypothèse d'une mutation germinale sous-jacente non détectée a été explorée par séquençage de nouvelle génération (MiSeq-V1, Illumina®), ciblée sur les régions codantes de 25 gènes de prédisposition au cancer. Deux mutations du gène MLH1 ont ainsi été identifiées.

En dépit des investigations entreprises, aucune mutation germinale n'a été identifiée chez 41 patients. D'autres mécanismes restent à explorer tels que l'existence de double mutations acquises des gènes MMR, de mutation germinale en mosaïque tissulaire ou l'implication d'autres gènes non connus.

**Mots-clefs :** syndrome de Lynch, Hyperméthylation somatique et germinale du promoteur de MLH1, séquençage de seconde génération (NGS)

## Oncogénétique

B104/#391

### Bilan des 7 premières années de consultations d'oncogénétique en Martinique

Odile BERA (1), Régine MARLIN (1), Laetitia BRONNER (2), Sophie KRIEGER (2), Dominique VAUR (2), Stéphanie BAERT-DESURMONT (3), Julie TINAT (3), Thierry FREBOURG (3)

1. Unité d'oncogénétique, CHU de Martinique, Fort-de-France, France
2. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CRLCC François Baclesse, Caen, France
3. Laboratoire de Génétique moléculaire, CHU de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** BERA Odile (odile.bera@chu-fortdefrance.fr)

La Martinique, département Français d'Amérique, située à 7000km de la France Hexagonale, fait partie des petites Antilles. Sa population façonnée par l'histoire est composée majoritairement des descendants mélangés d'esclaves noirs africains et de colons français. L'accès aux consultations d'oncogénétique sur l'île a été décalé dans le temps par rapport à la France hexagonale et a été favorisée par le rattachement de l'unité d'oncogénétique du CHU de Martinique à l'équipe pluridisciplinaire du CHU de Rouen. Des collaborations étroites se sont créées avec les laboratoires de Génétique Moléculaire du CHU de Rouen et du CRLCC de Caen qui réalisent, respectivement, le diagnostic moléculaire des formes héréditaires de cancer du côlon et celles de cancer du sein et de l'ovaire. La synergie Rouen-Caen-Fort de France est assurée par des visioconférences clinico-biologiques mensuelles. De janvier 2006, date de la création de l'unité d'oncogénétique à décembre 2012, 1257 consultations ont été réalisées en Martinique pour 503 familles. Les prédispositions au cancer du sein et des ovaires représentent 62% de l'ensemble des consultations et ont conduit à une analyse moléculaire des gènes BRCA 1/2 dans 190 familles. Pour 1/3 des cas index analysés, le motif de consultation était un cancer du sein isolé survenu entre 27 et 39 ans. 18 mutations délétères ont été mises en évidence dans les gènes BRCA représentant 10,3% de l'ensemble des sujets étudiés. Les mutations identifiées sont dans la 1/2 des cas de nouvelles mutations jusqu'alors jamais décrites avec pour l'une d'elle, l'hypothèse d'une mutation fondatrice. Le nombre de variants de signification inconnue est particulièrement élevé chez nos patients, de l'ordre de 40%. Les prédispositions aux cancers digestifs représentent 26% des consultations. Une histoire familiale a été à l'origine de 70 % des consultations. A l'issue de tests somatiques évocateur, 30 cas index ont bénéficié d'une analyse des gènes MMR, ce qui a permis l'identification de 8 mutations délétères. Une mutation délétère du gène APC a été identifiée dans 12 familles antillaises sur les 14 familles atteintes de polyposes répertoriées à ce jour sur l'île. Depuis 2008, des consultations avancées d'oncogénétique sont organisées deux fois par an à Cayenne. La Guyane Française située en Amérique du sud entre le Surinam et le Brésil est à 2 heures d'avion de Fort-de-France. Elle est composée d'une population très jeune et multi-ethnique caractérisée par une grande disparité d'accès au soin particulièrement en cancérologie. A ce jour, 3 mutations délétères des gènes BRCA ainsi que 2 mutations des gènes MMR ont ainsi été identifiées. Ce bilan révèle une proportion importante de VSI des gènes BRCA et indique que la majeure partie des formes précoces ou agrégations familiales de CCR ne s'explique pas par un syndrome de Lynch. Ces spécificités s'expliquent probablement en grande partie par la diversité du fond génétique de la population antillaise.

**Mots-clefs :** Martinique, Guyane, Oncogénétique

## Oncogénétique

**B105/#402**

### Perte d'expression des protéines MMR et absence d'instabilité microsatellitaire dans une tumeur du sein : identification d'un syndrome de Lynch par séquençage nouvelle génération.

Caroline ABADIE (1), Brivael GERY (1), Anne-Sophie LAJARTE-THIROUARD (2), Annick MOSSER (3), Jean LEVEQUE (4), Thierry FREBOURG (5), Laurent CASTERA (6), Sylvie ODENT (7), Catherine DUGAST (1)

1. Unité d'Oncogénétique, Centre Eugène Marquis Unicancer, RENNES, France
2. Cabinet d'anatomo-pathologie, Atalante pathologie, RENNES, France
3. Département de Génétique moléculaire, CHU Pontchaillou, RENNES, France
4. Département d'oncologie chirurgicale, Centre Eugène Marquis Unicancer, RENNES, France
5. Département de Génétique moléculaire, CHU Charles Nicolle, ROUEN, France
6. Laboratoire de biologie clinique et oncologique, Centre François Baclesse Unicancer, CAEN, France
7. Service de Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, RENNES, France

**Auteur correspondant :** ABADIE Caroline (abadie\_caro@yahoo.fr)

L'existence d'études somatiques rapides (phénotype RER, immunohistochimie des protéines de réparation des mésappariements de l'ADN, i.e. MMR) dans le syndrome de Lynch, a permis d'identifier dans des familles atteintes de ce syndrome, des tumeurs déficientes pour le système MMR mais classiquement non associées au spectre tumoral connu (sein, prostate). A ce jour, la question d'une éventuelle augmentation du risque de cancer du sein dans le syndrome de Lynch reste débattue.

Nous rapportons l'histoire d'une patiente initialement adressée en consultation d'oncogénétique devant une histoire personnelle et familiale (branche maternelle) de cancers du sein, justifiant une étude des gènes BRCA1 et BRCA2. Intrigués devant l'ensemble de l'histoire familiale, retrouvant la notion d'une tumeur rénale chez le frère décédé à l'âge de 20 ans, d'un cancer du côlon chez le père et d'une tumeur cérébrale chez une tante paternelle, aux âges respectifs de 41 et 57 ans, des analyses somatiques ont été initiées à partir de la tumeur mammaire de la patiente (carcinome intracanalair, 61 ans). Alors que le phénotype RER montre une tumeur sans instabilité microsatellitaire, une perte d'expression immunohistochimique des protéines MSH2 et MSH6 est objectivée. Cette discordance, associée aux antécédents familiaux, tend à renforcer l'hypothèse d'un syndrome de Lynch dans cette famille. L'analyse par séquençage nouvelle génération n'a pas retrouvé de mutation délétère des gènes BRCA1 et BRCA2 mais a révélé la présence d'une mutation non-sens du gène MSH2. A partir de cet exemple, nous discuterons des résultats d'analyses somatiques de tumeurs mammaires connues à ce jour dans des familles atteintes de syndrome de Lynch. Nous établirons un tour de la littérature posant la question du lien entre cancer du sein et syndrome de Lynch et réaffirmerons l'intérêt du séquençage nouvelle génération améliorant l'identification de personnes à risque, notamment dans des contextes de discordance d'analyses somatiques.

**Mots-clefs :** cancer du sein, syndrome de Lynch, analyses somatiques

## Oncogénétique

**B106/#403**

### Prédisposition aux cancers sein/ovaire liée au gène BRCA1 mise en évidence par l'analyse fortuite du caryotype.

Fabienne Picard (1), Periklis Makrythanasis (2), Vincent Navarro (3), Saeko Ishida (3), Julitta de Bellescize (4), Dorothee Ville (5), Sarah Weckhuysen (6), Erwin Fosselle (7), Arvid Suls (6), Peter De Jonghe (6), Maryline Vasselon - Raina (8), Gaetan Lesca (9), Christel Depienne (3), Isabelle An-Gourfinkel (3), Mihaela Vlaicu (3), Michel Baulac (3), Emeline Mundwiller (3), Philippe Couarch (3), Stylianos Antonarakis (2), Eric Leguern (3), Ortrud Steinlein (10), Stephanie Baulac (3)

1. Department of Neurology, University Hospitals of Geneva (HUG), Geneva 14, Switzerland
2. Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva, Geneva, Switzerland
3. ICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Epilepsy, Sleep and Pediatric Neurophysiology, University Hospitals of Lyon (HCL), Lyon, France
5. Hospices Civils de Lyon, HFME, centre de référence "déficiences intellectuelles de causes rares" et "sclérose tubéreuse de Bourneville", Bron, France
6. Neurogenetics group, Department of Molecular Genetics, VIB, Antwerp, Belgium
7. Algemeen Stedelijk Ziekenhuis, Aalst, Belgium
8. Centre hospitalier général de Valence, Valence, France
9. Department of Medical Genetics, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
10. Institute of Human Genetics, University Hospital, University of Munich, Germany

**Auteur correspondant :** Jonveaux Philippe (p.jonveaux@chu-nancy.fr)

Les familles dans lesquelles plusieurs cas de cancers du sein et/ou de l'ovaire sont observés, font l'objet d'une étude moléculaire des gènes BRCA1 et 2. Les mutations délétères ponctuelles ainsi que les réarrangements de grande taille sont retrouvées chez environ 10-15% de cas des probands étudiés au sein de ces familles. Qu'en est il des cas où aucune anomalie délétère de ces gènes n'est mise en évidence par l'approche classique (technique HRM, séquençage direct, MLPA)? La prédisposition est-elle liée à d'autres gènes ou combinaisons de gènes ou nos techniques ne permettent-elles pas de mettre en évidence certaines des anomalies existantes (mutations introniques profondes, modifications des séquences régulatrices...)? Nous apportons ici la réponse pour une des familles réunissant de façon caractéristique plusieurs cas de cancers sein/ovaire et pour laquelle l'étude classique des gènes BRCA1/2 s'est avérée non informative. Dans cette famille il existait 3 cas de cancers du sein survenus à un âge inférieur ou égal à 50 ans et un cas de cancer de l'ovaire à 38 ans chez des apparentées au premier degré. Pour éliminer une éventuelle phénocopie, l'étude moléculaire complète a été effectuée chez deux cas index de la famille. C'est finalement la réalisation fortuite d'un caryotype, motivée par l'élévation des marqueurs sériques chez une des patientes lors de sa grossesse, qui a mis en évidence une translocation t(1;17)(q41;q21.31). Cette translocation a été retrouvée chez deux cas index. Une analyse en CGH Array (Oligo-array 1M, société Agilent) au seuil de résolution de 2kb a permis de montrer l'absence de déséquilibre aux points de cassure de cette translocation. Comme elle intéressait la région du chromosome 17 pouvant concerner directement le gène BRCA1 (17q21.31), une étude FISH avec les sondes BACs a été réalisée afin de borner les points de cassure. Cette étude a montré que le point de cassure était situé au niveau du BAC RP11-812O05 comprenant le gène BRCA1. Afin de mettre en évidence l'impact de cette translocation sur l'expression du gène BRCA1, nous avons réalisé une RT-qPCR à partir de l'ARN sanguin d'une des patientes. Les résultats montrent une diminution de l'expression du gène BRCA1 sur plusieurs exons, d'environ 50% par rapport aux témoins. Cette étude confirme que la translocation retrouvée dans la famille impacte l'expression du gène BRCA1 et ainsi permet de conclure que nous sommes en présence de la prédisposition familiale aux cancers sein/ovaire liée au gène BRCA1.

Ainsi au sein de cette famille la recherche de translocation t(1;17)(q41;q21.31) sur le caryotype est applicable en tant que test prédictif pour la prédisposition familiale au cancers sein/ovaire liés au gène BRCA1. La question que nous pourrions nous poser, est quelle est la place du caryotype constitutif dans les familles si caractéristiques ; dans lesquelles l'analyse moléculaire est non informative.

**Mots-clefs :** Prédisposition aux cancers sein/ovaire, Caryotype, Baisse d'expression du gène BRCA1

## Oncogénétique

B107/#405

### Identification de nouveaux gènes de prédisposition héréditaire au cancer du sein par génotypage tumoral et séquençage de nouvelle génération

Virginie Bubien (1), Eric Letouzé (2), Aurélien De Reyniès (2), Emmanuelle Barouk-Simonet (1), Françoise Bonnet (1), Natalie Jones (1), Richard Iggo (3), Nicolas Sevenet (1), Michel Longy (1)

1. Unité d'oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
2. Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France
3. INSERM U916, Institut Bergonié, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Bubien Virginie (v.bubien@bordeaux.unicancer.fr)

Plus de la moitié des suspicions cliniques de prédisposition héréditaire au cancer du sein restent inexplicables sur le plan mutationnel. Les échecs répétés dans l'identification d'un gène majeur de prédisposition au cancer du sein autre que BRCA1 et BRCA2, ont conduit à la notion d'une importante hétérogénéité génétique impliquée dans les familles BRCAx. L'identification de gènes en cause repose donc sur l'étude de familles individuelles, rarement suffisamment étendues pour permettre des stratégies de localisation génique selon les méthodes classiques de liaison génétique ou d'association.

L'objectif de l'étude est de réaliser des génotypages de cancers du sein concernant différents membres d'une même famille afin d'identifier des haplotypes remaniés communs à forte valeur localisatrice vis-à-vis d'un facteur génétique causal.

17 familles avec récurrence de cancer du sein ont été sélectionnées dont 14 avec 2 échantillons tumoraux et 3 avec 3 échantillons tumoraux. L'ensemble des familles a d'abord fait l'objet d'un criblage mutationnel des gènes BRCA1 et BRCA2 avec identification d'une mutation délétère dans 3 familles servant de témoin positif à l'étude.

Des études sur puces SNP ont ensuite été menées sur les 37 ADN tumoraux disponibles. Les résultats obtenus n'ont pu être exploités pour 7 échantillons concernant 6 familles, du fait d'une contamination importante de ces échantillons par des cellules non tumorales. Les profils SNP ont pu être analysés pour les autres tumeurs familiales avec mise en évidence d'haplotypes conservés au sein de régions de perte d'hétérozygotie communes significatives (>1Mb) pour 7 familles, permettant d'identifier 58 régions candidates de taille variable [0,04 – 80Mb] correspondant en moyenne à 464 gènes par famille. Des gènes connus dans la prédisposition héréditaire au cancer siègent dans ces régions comme MRE11A pour 3 familles, ATM pour 2 familles, BRCA2, TP53, CHEK2 et AKT1 pour 1 famille. Aucune perte d'hétérozygotie commune significative n'a en revanche été retrouvée pour les tumeurs familiales de 4 familles, ne permettant pas dans ce cas la recherche d'haplotype conservé au sein de ces régions.

La séquence exomique d'un cas index a été réalisée pour ces 11 familles permettant de rechercher un événement mutationnel spécifique, en particulier dans les régions identifiées.

**Mots-clefs :** Cancer du sein, BRCAx, Génotypage tumoral

## Oncogénétique

B108/#408

### Evaluation de la pratique du dépistage du syndrome de Lynch en Midi-Pyrénées : analyse rétrospective de 786 analyses du phénotype MMR tumoral pratiquées entre 2007 et 2010.

Camille HERVE (1), Delphine BONNET (2), Anne STAUB (3), Sylvain KIRZIN (4), Christine TOULAS (5), Laurence GLADIEFF (6), Viviane FEILLEL (6), Edith CHIPOULET (7), Janick SELVES (8), Rosine GUIMBAUD (7)

1. Gastro-entérologie, CHU de TOULOUSE, TOULOUSE, France
2. Oncogénétique, CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
3. Oncologie médicale, Institut Claudius Regaud, TOULOUSE, France
4. Chirurgie Digestive, CHU Purpan, TOULOUSE, France
5. Laboratoire de génétique, Institut Claudius Regaud, TOULOUSE, France
6. Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, TOULOUSE, France
7. Oncogénétique, Institut Claudius Regaud et CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
8. Anatomie pathologique, CHU Purpan, TOULOUSE, France

**Auteur correspondant :** BONNET Delphine (delphine.c.bonnet@wanadoo.fr)

Le syndrome de Lynch (SL) est le syndrome de prédisposition héréditaire aux cancers colorectaux (CCR) le plus fréquent (3% d'entre eux). Il est lié à une mutation germinale de l'un des gènes MMR. Le SL est sous-diagnostiqué : il est identifié chez moins de tiers des 1000 nouveaux cas de CCR qui lui seraient attribuables chaque année en France. Pourtant, des mesures efficaces de prise en charge des risques tumoraux peuvent être mises en oeuvre dans les familles porteuses. Le dépistage du SL repose sur l'analyse du phénotype MMR tumoral chez les sujets atteints de CCR avant 60 ans ou ayant un antécédent personnel ou familial de CCR ou de cancer de l'endomètre. Cette analyse repose sur une recherche d'instabilité microsatellitaire (IMS) et une immunohistochimie (IHC) des protéines MMR sur le tissu tumoral. En cas de phénotype dMMR (déficient MMR : instabilité microsatellitaire, extinction IHC d'au moins 1 protéine MMR), un SL est suspecté et une recherche de mutation germinale doit être proposée dans le cadre d'une consultation d'oncogénétique (OG). Le phénotype dMMR n'est pas spécifique au SL, puisqu'il est présent chez 15% des CCR sporadiques. Nous avons étudié l'application et la rentabilité diagnostique de ces recommandations dans la région Midi-Pyrénées. Les prescriptions d'analyse du phénotype MMR tumoral réalisées de janvier 2007 à juin 2010 ont été recueillies à partir d'une base de données prospective centralisant toutes les demandes de la région. Le devenir de ces demandes a été étudié. Les motifs de l'absence de consultation OG pour les patients avec tumeur dMMR ont été collectées par courrier adressé au médecin référent du patient. Résultats : 786 patients ont été inclus. Le phénotype MMR tumoral était analysable chez 94% des cas, par les 2 techniques IMS et IHC (77% des cas), sinon par une seule des deux. Les demandes provenaient : d'un CHU ou CLCC (55% des cas), d'un CHG (15%), d'un centre privé (27%). Le prescripteur était : oncogénéticien (31% des cas), une RCP d'oncologie (19%), anatomopathologiste (10%), clinicien (28%). La demande avait été faite pour : un CCR (84% des cas), des polypes coliques (9%), des tumeurs extra-coliques (7%). Le motif de prescription était précisé dans 61% des cas. Dans 56% il s'agissait du seul critère d'âge (≤60 ans). Un quart des demandes pour polypes étaient injustifiées ou non motivées. Sur les 786 patients, 106 (13%) avaient un phénotype dMMR, 81 d'entre eux (79%) ont été vus en consultation OG et 55 ont été identifiés comme porteurs d'un SL (52% des dMMR). Concernant les 25 patients avec tumeur dMMR non vus en consultation OG, dans 1 cas sur 2 les médecins contactés n'étaient pas au courant de ce résultat ou de son implication. Conclusion : Dans ce territoire régional, les recommandations de dépistage du SL sont relativement bien appliquées mais certaines faiblesses ont été identifiées. En particulier, la prescription d'analyse du phénotype MMR tumoral par les cliniciens reste insuffisante.

**Mots-clefs :** Lynch syndrome, HNPCC, Microsatellite instability



## Oncogénétique

**B109/#433**

### PBRM1, un nouveau gène de prédisposition au cancer du rein familial ?

Sophie Gad (1), Sophie Couvé (1), Hélène Le Jeune (1), Mélanie Da Costa (1), Gaëlle Fromont (2), Françoise Memeteau (3), Mokrane Yacoub (4), Sophie Ferlicot (5), Brigitte Bressac-de Paillerets (6), Sophie Giraud (7), Brigitte Gilbert-Dussardier (8), Stéphane Richard (1, 9)

- Laboratoire de Génétique Oncologique EPHE et INSERM U753, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
- Laboratoire d'Anatomie et Cytopathologie, CHU, Poitiers, France
- Département d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Centre Hospitalier, Niort, France
- Service de Pathologie, Groupe Pellegrin, Centre Hospitalier Universitaire, Bordeaux, France
- Service d'Anatomie Pathologique, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
- Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
- Service de Génétique, Hôpital E. Herriot, Hospices Civils, Lyon, France
- Service de Génétique Médicale, CHU, Poitiers, France
- Centre Expert National Cancers Rares PREDIR, AP-HP/INCa, Service d'Urologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

**Auteur correspondant :** GAD Sophie (sophie.gad@gustaveroussy.fr)

Le cancer du rein représente 3% des cancers de l'adulte. Les formes familiales représentent environ 2% de ces cas et se transmettent selon le mode autosomique dominant. Dans ce contexte, les principaux gènes de prédisposition au cancer du rein que sont VHL, FLCN, FH et MET sont criblés à la recherche de mutation germinale.

Dans les cancers du rein sporadiques, des mutations somatiques du gène VHL, situé en 3p25, sont fréquemment détectées et associées à une perte d'hétérozygotie touchant le bras court du chromosome 3. Il a de plus été récemment rapporté dans ces tumeurs des mutations somatiques délétères du gène PBRM1, situé en 3p21, codant la sous-unité BAF180 du complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF, qui apparaît ainsi comme un nouveau gène suppresseur de tumeur impliqué dans les cancers du rein sporadiques.

Dans le but d'évaluer si PBRM1 pourrait expliquer certaines formes familiales de cancer du rein, nous avons séquencé les 30 exons de ce gène dans une série de 24 ADN constitutionnels provenant de 24 cas index de familles qui présentaient au moins 2 cas liés au premier degré, diagnostiqués avant 50 ans et pour lesquels aucune mutation germinale des gènes cités précédemment n'avait été détectée.

Une mutation germinale responsable de l'apparition d'un codon stop prématuré a été identifiée dans le gène PBRM1 chez un patient dont la mère et la sœur sont décédées des suites d'un cancer du rein. L'étude somatique dans les blocs en paraffine de ces 3 individus a montré la présence de cette mutation dans les tissus rénaux normaux et tumoraux, avec une très probable perte d'hétérozygotie dans ces derniers. En revanche, aucune mutation somatique du gène VHL n'a été détectée dans ces tissus. Enfin, il s'avère qu'une sœur du proposant âgée de 61 ans et non atteinte à ce jour, ne porte pas la mutation germinale de PBRM1.

En conclusion, nous avons détecté une mutation germinale de PBRM1 dans 1/24 familles à cas multiples de cancers du rein. Ce travail va être complété d'une part, par la recherche de délétions ou duplications génomiques dans la même série de familles, et d'autre part, par l'analyse de nouvelles familles afin de pouvoir classer PBRM1 comme nouveau gène de prédisposition au cancer du rein.

**Mots-clefs :** cancer du rein, prédisposition, gène PBRM1

## Oncogénétique

**B110/#454**

### L'instabilité microsatellitaire dans les cancers de l'endomètre comme outil de dépistage du syndrome de Lynch.

Anne STAUB (1), Delphine BONNET (2), Eliane MERY (3), Pierre LEGUEVAQUE (4), Laurence GLADIEFF (5), Viviane FEILLEL (5), Edith CHIPOULET (6), Janick SELVES (7), Rosine GUIMBAUD (6)

- Oncologie médicale, Institut Claudius Regaud, TOULOUSE, France
- Oncogénétique, CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
- Anatomie pathologique, Institut Claudius Regaud, TOULOUSE, France
- Gynécologie, CHU Rangueil, FRANCE, France
- Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, TOULOUSE, France
- Oncogénétique, Institut Claudius Regaud et CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
- Anatomie pathologique, CHU Purpan, TOULOUSE, France

**Auteur correspondant :** BONNET Delphine (delphine.c.bonnet@wanadoo.fr)

Le syndrome de Lynch (SL) est un syndrome de prédisposition héréditaire aux cancers, de transmission autosomique dominante, lié à une mutation germinale d'un gène MMR (mismatch repair). Il expose à un risque majeur de cancer colorectal (CCR) et de cancer de l'endomètre (CE), avec pour ce dernier un risque cumulé à 70 ans de 30%. Les tumeurs liées au SL présentent une instabilité génétique particulière due à la déficience du système MMR. Ce phénotype dMMR (déficient MMR) se traduit par une instabilité microsatellitaire (IMS) et/ou l'extinction, en immunohistochimie (IHC), d'au moins 1 protéine MMR. La mise en évidence de ce phénotype dMMR est un outil d'identification du SL dans les CCR. Toutefois, ce phénotype n'est pas spécifique du SL et caractérise également les tumeurs sporadiques ayant subi une inactivation somatique du système MMR, principalement par hyperméthylation du promoteur du gène MLH1. La validité de cet outil de dépistage du SL chez les patientes atteintes de CE a été peu évaluée. Nous avons donc étudié les caractéristiques tumorales de 168 patientes consécutives opérées par hystérectomie d'un CE de type adénocarcinome, entre 2003 et 2008, au CHU et au Centre de Lutte Contre le Cancer de Toulouse, pour lesquelles du tissu tumoral et les données cliniques étaient disponibles. Sur 160 cas analysables, 65 (40%) des CE présentaient un phénotype dMMR. Le coefficient de concordance entre les 2 techniques (IMS et IHC) était de 0,8 : 32% des CE avaient une IMS forte (au moins 2 marqueurs instables/5) et 39% une extinction IHC d'une protéine MMR. Un niveau d'IMS faible (1 marqueur instable/5) était fréquent : 10 cas soit 6,5%. Sur les 41 cas dMMR avec perte d'expression de la protéine MLH1, 39 présentaient une hyperméthylation du promoteur de ce gène, très en faveur d'une origine sporadique. Aucune mutation V600E de BRAF n'a été détectée (sur 154 cas analysés). Un SL peut être suspecté chez 10 des 65 patientes ayant un phénotype tumoral dMMR du fait de leur histoire personnelle ou familiale (antécédents de CCR : 2 cas dMMR) ou du fait du profil IHC de la tumeur (extinction de MSH2 et/ou MSH6, 6 cas ; extinction de MLH1 sans hyperméthylation, 2 cas). Le phénotype dMMR dans le CE était significativement corrélé à un poids corporel plus faible, à un grade tumoral plus élevé et à la présence d'embolies tumorales. Conclusion : la fréquence du phénotype dMMR est élevée dans les CE (40%, contre 15% dans les CCR). La concordance entre l'IMS et l'IHC est moins bonne que dans le CCR, avec une fréquence élevée d'IMS faible et un profil d'instabilité différent. Une majorité de ces cancers, dans cette population non sélectionnée, semble sporadique et non liée au SL. La mutation V600E de l'oncogène BRAF ne semble pas impliquée dans la carcinogenèse des CE dMMR sporadiques. L'utilisation du phénotype tumoral MMR comme outil d'identification du SL dans les CE doit donc être mieux définie.

**Mots-clefs :** Lynch Syndrome, HNPCC, Endometrial cancer



## Oncogénétique

B111/#464

### Intégration de la recherche d'épimutation constitutionnelle du gène MLH1 dans la stratégie de diagnostic moléculaire du syndrome de Lynch

Julie LECLERC (1), Michel CREPIN (2), Stéphanie BAERT-DESURMONT (3), Julie TINAT (3), Sophie LEJEUNE (4), Françoise BONNET (5), Odile CABARET (6), Marine GUILLAUD-BATAILLE (7), Emmanuelle BAROUK-SIMONET (8), Catherine DUGAST (9), David MALKA (10), Gilles MORIN (11), Michèle MATHIEU (11), Sylvie MANOUVRIER (12), Thierry FREBOURG (3), Marie-Pierre BUISINE (1)

1. Laboratoire d'Oncologie et Génétique Moléculaires / Inserm UMR837 – Université Lille Nord de France, CHRU de Lille, Lille, France
2. Laboratoire d'Oncologie et Génétique Moléculaires, CHRU de Lille, Lille, France
3. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, Lille, France
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire / Inserm U916, Institut Bergonié, Bordeaux, France
6. Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
8. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux, France
9. Service d'Oncogénétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
10. Service de Génétique Clinique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
11. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
12. Service de Génétique Clinique / Université Lille Nord de France, CHRU de Lille, Lille, France

**Auteur correspondant :** Leclerc Julie (julie.leclerc@chru-lille.fr)

Le syndrome de Lynch (ou syndrome HNPCC, Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer) est un syndrome de prédisposition héréditaire au cancer, principalement du côlon, du rectum et de l'endomètre. Il est lié à une altération constitutionnelle d'un des gènes MMR (Mismatch Repair) : MLH1, MSH2, MSH6 ou PMS2, qui codent des protéines impliquées dans la réparation des mésappariements de l'ADN. Il s'agit en général d'altérations génétiques, de type mutations ponctuelles, insertions-délétions de petite taille ou réarrangements exoniques.

En 2002 a été identifié le premier patient porteur d'une altération épigénétique d'un gène MMR (Gazzoli et al., Cancer Res 2002). Il s'agit d'une hyperméthylation constitutionnelle du promoteur du gène MLH1, associée à une inactivation transcriptionnelle de l'allèle atteint. Les épimutations constitutionnelles du gène MLH1 ont ainsi été décrites comme pouvant être responsables de syndrome de Lynch.

Nous présentons le bilan de la recherche d'épimutation du gène MLH1, 4 ans après son inclusion dans la stratégie diagnostique du syndrome de Lynch de notre laboratoire, ainsi que l'état actuel des connaissances concernant ces épimutations.

Deux cent deux patients ont bénéficié d'une analyse des gènes MMR incluant la recherche d'hyperméthylation constitutionnelle du promoteur du gène MLH1 dans notre laboratoire. Cette recherche a également été réalisée pour 134 autres échantillons d'ADN provenant de patients sans mutation génétique identifiée et transmis par les autres laboratoires français d'Oncogénétique Digestive, soit un total de 336 patients.

Une perte d'expression de la protéine MLH1 +/- PMS2 a été mise en évidence par immunohistochimie pour 182 patients sans mutation génétique. Une épimutation a été identifiée chez 9 patients, ce qui correspond à un taux de positivité de 5 % (9/182).

Même si le taux de positivité est relativement faible, il n'est pas négligeable et il apparaît donc important de rechercher les épimutations constitutionnelles du gène MLH1 chez les patients présentant un phénotype tumoral évocateur, sans mutation génétique identifiée. Il faut également garder à l'esprit que la mise en évidence au niveau tumoral d'une hyperméthylation du promoteur de MLH1 est révélatrice d'une tumeur sporadique à la condition d'avoir vérifié, en particulier chez les sujets jeunes, l'absence d'hyperméthylation constitutionnelle. De plus, la mise en évidence d'une mutation

somatique du gène BRAF ne permet pas d'exclure l'existence d'une hyperméthylation constitutionnelle.

Le conseil génétique des apparentés de patients porteurs d'une épimutation constitutionnelle de MLH1 reste délicat. Nous avons entrepris l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans ces altérations épigénétiques, afin d'aider à leur compréhension, ce qui devrait permettre aux patients de bénéficier d'informations plus précises quant au risque de transmission à la descendance et à l'intérêt de réaliser une analyse prédictive chez les apparentés.

**Mots-clés :** syndrome de Lynch, épigénétique, épimutation constitutionnelle du gène MLH1

## Oncogénétique

**B112/#465**

### Phénotype rer et syndrome de lynch : intérêt des analyses dans les tumeurs autres que colorectales et endométriales ?

brivael GERY (1), Caroline ABADIE (1), Annick MOSSER (2), Alexandra LESPAGNOL (2), Marie-Pascale BEAUMONT-EPINETTE (2), Jean MOSSER (2), Nathalie RIOUX-LECLERCQ (3), Anne-Sophie DE LAJARTE-THIROUARD (4), Thierry FREIBOURG (5), Sylvie ODENT (1), Catherine DUGAST (6)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
2. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Pontchaillou, Rennes, France
4. Cabinet de Pathologie, Atalante Pathologie, Rennes, France
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rouen, Rouen, France
6. Service d'Oncogénétique, Centre Eugène Marquis, Unicancer, Rennes, France

**Auteur correspondant** : GERY Brivael (brivael.gery@chu-rennes.fr)

Le diagnostic de syndrome de LYNCH peut être suspecté par le biais d'analyses somatiques combinant la recherche d'instabilité micro-satellitaire et la perte d'expression immunohistochimique des protéines de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR). Les données de ces analyses sont peu connues pour les tumeurs non colorectales non endométriales (TNCNE).

Nous rapportons ici des données rétrospectives concernant l'ensemble des recherches d'instabilité micro-satellitaire de TNCNE réalisés sur la plateforme génomique moléculaire de RENNES (2011, 2012, 1er semestre 2013) dans un cadre diagnostique (recommandation INCa 2009) ainsi qu'une série d'analyses effectuées sur des TNCNE chez des patients porteur d'un syndrome de LYNCH.

Durant cette période une recherche d'instabilité micro-satellitaire a été réalisée sur 175 TNCNE: 157 tumeurs stables, 9 instables (environ 5%) et 9 cas non interprétables. Les cancers avec instabilité correspondaient à des cancers de l'appendice (1, âge: 41 ans), de l'intestin grêle (3, âge: 21,42 et 45 ans), du duodénum (2, âge: 56 et 59 ans), de l'estomac (1, âge 75 ans), des voies excrétrices urinaires (2, âge 55 et 56 ans).

3 de ces tumeurs présentaient une perte d'expression MLH1 et/ou PMS2 avec 2 d'entre elles ayant 1 hyperméthylation du promoteur de MLH1; 4 tumeurs présentaient une perte d'expression MSH2 et/ou MSH6, 1 tumeur présentait une immunohistochimie normale et 1 tumeur avait une immunohistochimie non interprétable.

Seuls 7 de ces patients ont été vus en consultation. Un syndrome de Lynch a été identifié dans 2 cas (grêle à 21 ans et duodénum à 59 ans), les analyses sont toujours en cours pour 4 cas et l'analyse génétique est revenue normale pour l'un des cas (duodénum à 56 ans).

Toutes les analyses (40) réalisées sur une tumeur ovarienne à moins de 60 ans sont revenues stables.

Sur 73 familles avec mutation d'un gène MMR, environ 250 individus ont présenté au moins une tumeur dont 69 correspondent à une TNCNE. Des analyses somatiques étaient disponibles pour 7 de ces tumeurs: sein (2, âge 35 et 62 ans), glioblastome (1, âge 48 ans), ovaire (1, âge 62 ans), appendice (1, âge 46 ans), kerato-acanthome (1, âge 47 ans), rein à cellules claires (1, âge 34 ans). Dans 1 cas la tumeur était instable avec une perte MLH1 PMS2: cancer de l'appendice à 46 ans chez une patiente mutée MLH1.

Dans le cas des TNCNE, la recherche d'instabilité micro-satellitaire est une aide au diagnostic de syndrome de LYNCH mais nos résultats tendent à montrer que son absence ne permet pas à elle seule d'éliminer la présence du syndrome de LYNCH chez un patient présentant une TNCNE. Ce résultat d'analyse doit être confronté aux antécédents personnels et familiaux. Les nouvelles techniques de séquençage haut débit de type NGS facilitant l'étude moléculaire des gènes MMR permettront à l'avenir d'améliorer l'identification des personnes atteintes d'un syndrome de LYNCH y compris chez celles présentant une TNCNE stable.

**Mots-clés** : phénotype RER, syndrome de Lynch, somatique

## Oncogénétique

**B113/#467**

### Re-séquençage ciblé d'ADN constitutionnel de patients atteints de maladie de Cowden sans mutation PTEN identifiée en phase codante : caractérisation de mosaïcismes constitutionnels à très faible fréquence

Stéphanie GOURDON (1), Delfine LAFON (2), Jennifer DUPIOT-CHIRON (3), Gaëlle GENESTE (2), Natalie JONES (4), Sophie JULIA (5), Sandra FERT-FERRER (6), Françoise BONNET (4), Michel LONGY (4), Nicolas SEVENET (4)

1. INSERM U916, Institut Bergonié, Bordeaux, France
2. Unité d'Oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
3. Plateforme Génome-Transcriptome, CGFB, Université de Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
4. Unité d'Oncogénétique & INSERM U916, Institut Bergonié, Bordeaux, France
5. Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse, France
6. Génétique chromosomique, Centre Hospitalier, Chambéry, France

**Auteur correspondant** : SEVENET Nicolas (n.sevenet@bordeaux.unicancer.fr)

#### Introduction

La maladie de Cowden fait partie du groupe des PTEN hamartoma tumor syndrome (PHTS) caractérisés sur le plan moléculaire par une mutation constitutionnelle inactivatrice du gène PTEN. La caractérisation de cette altération constitutionnelle permet de confirmer un diagnostic parfois difficile sur les seuls arguments phénotypiques du fait de la grande hétérogénéité de l'expression de la maladie

**Matériel et Méthodes**  
Le diagnostic moléculaire de maladie de Cowden est réalisé depuis 1997 au laboratoire de génétique moléculaire de l'Institut Bergonié. Sur 1500 échantillons d'ADN constitutionnel criblés, nous avons isolé une série de 22 cas index atteints de maladie de Cowden sans mutation identifiée en phase codante du gène PTEN. Nous avons construit une banque de capture d'oligonucléotides recouvrant les 565 exons de 34 gènes d'intérêt et l'entièreté du locus génomique de PTEN sur le chromosome 10. Les paramètres de « design » utilisant le site SureDesign d'Agilent technologies ont compris la version 70 d'Ensembl genome, et l'utilisation des données de RepeatMasker d'UCSC en version modérément stringente. Cela a permis de construire une banque de 28405 oligonucléotides uniques de 120-mers dont chaque sonde a été dupliquée de 1 à 16 fois selon le pourcentage en GC et la taille de la région cible (on-target, maximum boost performance). Pour chaque gène d'intérêt, un exon d'un gène adjacent a été également capturé avec pour objectif de délimiter les réarrangements de grande taille en cas de leur détection par NGS.

**Résultats**  
Il a été détecté chez chacun des 22 cas index atteints de maladie de Cowden une moyenne de 70 variants introniques dans le locus génomique de PTEN. Tous les variants pour lesquels la fréquence de l'allèle mineur n'était pas connue ou non répertoriée ont été soumis aux logiciels de prédiction de retentissement sur l'épissage. Pour un des patients, une prédiction de retentissement majeur d'un variant profond dans l'intron 1 est documentée. Par ailleurs pour deux patients, une mutation constitutionnelle inactivatrice dans l'exon 7 de PTEN a été identifiée avec un faible pourcentage de séquences mutées, faisant suspecter un mosaïcisme constitutionnel. Par ailleurs plusieurs variants ont été identifiés dans des gènes de la voie PI3 kinase, pouvant être impliqués dans des pathologies du groupe des PHTS. Les rationnels clinique et biologique, l'analyse bioinformatique et les résultats seront présentés.

**Mots-clés** : PTEN, NGS, mosaïcisme

## Oncogénétique

**B114/#493**

### Évolution de l'état psychologique de patients porteurs d'une mutation et SDH inclus dans un protocole national de dépistage des tumeurs (PGL-EVA) d'une durée de trois ans.

Khadija LAHLOU-LAFORET (1), Aurore CAUMONT-PRIM (2), Silla CONSOLI (3), Vincent ROHMER (4), Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO (5)

1. U.F. de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France
2. Unité d'Épidémiologie et de Recherche Clinique, Hôpital Européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
3. U.F. de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences ; Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France
4. INSERM, Centre d'investigation Épidémiologique, Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, ANGERS, France
5. Service de Génétique ; Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, INSERM, UMR970, Centre de recherche cardiovasculaire de l'HEGP, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France

**Auteur correspondant :** LAHLOU-LAFORET Khadija (khadija.lahlou-laforet@egp.aphp.fr)

Les paragangliomes et phéochromocytomes sont familiaux dans environ 40 % des cas. Les formes héréditaires sont plus précoces et présentent un risque de récurrence et de malignité. Le diagnostic génétique chez les cas index et les apparentés permet un dépistage et un traitement chirurgical précoce des tumeurs. L'étude PGL-EVA (PHRC national 2004) avait pour principal objectif d'évaluer les performances des différents examens radiologiques et biologiques dans le dépistage des tumeurs chez les sujets porteurs d'une mutation sur un gène SDHx (SDHD, SDHB, SDHC), suivis pendant trois ans, afin d'établir des règles de consensus pour leur prise en charge.

Objectif : Evaluer le retentissement psychologique du protocole de dépistage des tumeurs chez les sujets inclus dans l'étude PGL-EVA.

Méthodes : Une première évaluation par auto-questionnaires de la dépression (Beck 13), de l'anxiété trait et état (STAI) et de l'impact stressant du résultat du test génétique (IES-R) a été faite à l'inclusion. Les scores de dépression et d'anxiété état ont été évalués à nouveau après les explorations (angiogramme de la tête et du cou, scanner thoraco-abdominopelvien, scintigraphies à l'<sup>123</sup>I métaiodobenzylguanidine et à l'<sup>111</sup>In-pentétréotide, dosages hormonaux) visant à dépister les tumeurs, puis une fois par an jusqu'à la fin du suivi. Résultats : A l'inclusion (n=197) les scores de dépression et de stress lié au résultat génétique sont plus élevés chez les cas index que chez les apparentés (respectivement p=0,023 et p=0,013).

On constate, après les premières explorations, une diminution des scores de dépression (p=0,003) et d'anxiété (p=0,006).

Pour les 73 sujets qui ont rempli des questionnaires à 36 mois le score final de dépression est corrélé au score initial (p=0,013).

Conclusions : Le dépistage des tumeurs chez des sujets génétiquement prédisposés n'entraîne pas d'aggravation des troubles émotionnels sur une période de trois ans. On constate au contraire, une diminution de l'anxiété chez les sujets les plus réactifs initialement (femmes, tempérament anxieux, réaction de stress au résultat du test génétique).

**Mots-clefs :** Impact psychologique du dépistage des tumeurs, Retentissement émotionnel du dépistage au long cours, Paragangliomes et phéochromocytomes

## Oncogénétique

**B115/#524**

### PGL.R : Registre Français du Paragangliome héréditaire SDH-dépendant

Samir Do Rego (1), Anne Barlier (2), Aurore Caumont-Prim (3), Juliette Djadi-Prat (4), Sophie Giraud (5), Abel Grine (6), Jean-François Leforestier (7), Pascal Pigny (8), Delphine Mirebeau-Prunier (9), Vincent Rohmer (10), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (11)

1. Service de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital de la Conception, Marseille, France
3. Unité d'Épidémiologie et de Recherche Clinique, Hôpital européen Georges pompidou, Paris, France
4. Centre d'Investigation Épidémiologique 4, INSERM, Paris, France
5. Laboratoire de Génétique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
6. Unité d'Épidémiologie et de Recherche Clinique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
7. Unité d'Épidémiologie et de Recherche Clinique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
8. Département de Biologie, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
9. Laboratoire de Biochimie, CHU d'Angers, Angers, France
10. Endocrinologie, CHU d'Angers, Angers, France
11. INSERM, UMR970, PARCC@HEGP, Paris, France

**Auteur correspondant :** Gimenez-Roqueplo Anne-Paule (anne-paule.gimenez-roqueplo@inserm.fr)

Le paragangliome héréditaire SDH-dépendant est une maladie rare secondaire à une mutation constitutionnelle sur l'un des gènes SDHx (SDHD, SDHC, SDHB, SDHAF2, SDHA) se manifestant par l'association de paragangliomes de la tête et du cou, du thorax, de l'abdomen et du pelvis pouvant sécréter des catécholamines et être responsables de complications cardiovasculaires.

En France, dès l'identification des premières mutations (2001), des recherches dédiées au paragangliome héréditaire ont été menées dans le cadre d'un réseau national GIS-Institut des Maladies Rares (PGL.NET) puis dans le cadre d'un PHRC national 2004 (PGL-EVA, évaluation des méthodes de dépistage du paragangliome héréditaire SDH dépendant). A l'issue de ce PHRC, le registre PGL.R a été créé afin de collecter de façon centralisée l'ensemble des sujets atteints de paragangliome héréditaire (porteurs d'une mutation sur un gène SDHx et ayant développé au moins une tumeur paraganglionnaire). Le registre PGL.R a été qualifié par le Comité National des Registres Maladies Rares, l'institut de veille sanitaire (InVS) et l'INSERM début 2013.

Les cas sont identifiés par l'intermédiaire des cinq laboratoires français réalisant le génotypage des gènes SDHx. La base de données du registre est gérée en collaboration avec l'unité de recherche clinique de l'HEGP. Une fois le statut génétique connu, puis après information du patient et recueil de sa non-opposition, le formulaire de l'étude et la fiche de contact sont complétés puis transmis par le médecin prescripteur afin d'effectuer la mise à jour de la base de données. Le formulaire saisi sous format Word est renvoyé au médecin ainsi qu'un nouveau formulaire vierge pour la prochaine visite du patient.

Le premier objectif de PGL.R est de valider des recommandations de suivi des patients qui restent non évalués car l'histoire naturelle de la maladie reste mal connue. Pour ce faire, le recueil exhaustif et continu de l'ensemble des sujets atteints est fondamental. Il permettra en outre de déterminer la pénétrance réelle de la maladie, l'incidence des récurrences et des formes malignes ainsi que des corrélations génotypes-phénotypes selon le type de gène et de mutation. PGL.R sera aussi le support des études ancillaires de recherche qui restent à mener. La poursuite de l'effort français autour du paragangliome héréditaire via PGL.R permettra de former les médecins aux particularités de la maladie, d'évaluer son impact réel et définir les bonnes stratégies diagnostiques et de surveillance, de réduire la morbidité et ainsi le coût de la maladie. PGL.R collaborera aussi avec différents réseaux internationaux s'intéressant au paragangliome héréditaire SDH-dépendant, via ses liens privilégiés avec les équipes de PRESSOR (pheochromocytoma and paraganglioma research support organization) et d'ENS@T (european network for the study of adrenal

tumors) ainsi qu'avec les associations de patients touchés par la maladie.

**Mots-clefs :** Parangliome héréditaire, SDHD, SDHB

## Oncogénétique

**B116/#571**

### Les cancers épithéliaux de l'ovaire chez les femmes jeunes

Judith Michels (1), Annie Rey (2), Pierre Duviard (3), Olivier Caron (4), Brigitte Bressac (5), Philippe Morice (6), Sébastien Gouy (6), Alexandra Leary (1), Catherine Lhomme (4), Patricia Pautier (4)

1. Département de médecine, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Biostatistiques, Gustave Roussy, Villejuif, France
3. Anatomopathologie, Gustave Roussy, Villejuif, France
4. département de médecine, Gustave Roussy, Villejuif, France
5. génétique, Gustave Roussy, Villejuif, France
6. Chirurgie, Gustave Roussy, Villejuif, France

**Auteur correspondant :** Pautier Patricia (Patricia.PAUTIER@gustaveroussy.fr)

**Objectif :** Le cancer épithélial de l'ovaire est une maladie peu commune chez les femmes jeunes. Des mutations constitutionnelles des gènes BRCA1 et BRCA2 sont identifiées essentiellement pour les cas diagnostiqués après 35 ans. Il y a peu d'informations concernant les tumeurs épithéliales survenant chez les femmes très jeunes de moins de 30 ans. On distingue deux types histologiques de cancer de l'ovaire : le type II, le plus fréquent (75%), est le plus génétiquement instable (dans 50% des cas la recombinaison homologue est déficiente notamment en lien avec une altération somatique ou constitutionnelle de BRCA1 ou BRCA2), sensible à la chimiothérapie mais de mauvais pronostic par rapport au type I (25%) qui présente peu d'altérations chromosomiques, avec cependant de nombreuses mutations géniques (KRAS, PTEN, HER2, Met, BRAF, PI3K, ARID1A, CTNNB1), plutôt résistant à la chimiothérapie mais de meilleur pronostic.

**Résultats :** Les dossiers de 71 patientes de moins de 30 ans traitées à Gustave Roussy pour un cancer épithélial de l'ovaire de janvier 1990 à 2009 ont été repris. Une consultation d'oncogénétique a été réalisée chez 38% des patientes (n=27). Une seule mutation délétère (BRCA2) a été identifiée dans ce sous-groupe (4%). Afin d'explorer l'hypothèse d'un syndrome de Lynch, 17 IHC dirigées contre les protéines MMR et 12 tests d'instabilité ont été réalisés : aucun phénotype MSI n'a été identifié. Dans l'ensemble de la série, les stades localisés étaient majoritaires : 49% stade I, 4% de stade II, 41% de stade III et 6% de stade IV. Le type I (96%, n=68) prédominait par rapport au type II (4%, n=3). La survie sans progression à 5 ans et 10 ans était de 47% [34-60] et la survie globale à 5 ans et 10 ans de 66% [52-77] et 60% [43-73] respectivement.

**Discussion :** Les cancers épithéliaux de l'ovaire sont rares chez les patientes jeunes. Il existe une prédominance de stades FIGO localisés. Nous n'avons trouvé qu'une seule mutation BRCA2, compatible avec la minorité de type II. Les types I étaient surreprésentés ce qui peut expliquer les longues survies (peu de différence entre les survies à 5 et 10 ans). Le faible nombre de consultations d'oncogénétique réalisées peut s'expliquer par l'ancienneté de la série et par les types histologiques peu compatibles avec des mutations BRCA notamment.

**Conclusion :** Les cancers épithéliaux de l'ovaire chez les femmes jeunes sont des maladies souvent de stade localisé et le plus souvent de type I. La fréquence des mutations constitutionnelles des gènes BRCA1 et BRCA2 est extrêmement faible. Le syndrome de Lynch semble également rare, même si les investigations dans notre série se poursuivent. Le substrat génétique des cancers de l'ovaire de la femme très jeune reste à identifier.

**Mots-clefs :** cancer épithélial de l'ovaire, femmes jeunes, mutation BRCA

## Oncogénétique

**B117/#575**

### Analyse d'une cohorte de 119 patients pour suspicion de syndrome HLRCC: Identification et étude fonctionnelle de nouvelles mutations du gène FH.

Marine Guillaud-Bataille (1), Johny Bombléd (1), Abdel Slama (2), Julie Adam (3), Odile Cabaret (1), Sophie Deveaux (4), Patrick Benusiglio (4), Stéphane Richard (4), Brigitte Bressac-De Paillerets (1)

1. Service de Génétique, Département biologie et pathologie médicales, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Laboratoire de Biochimie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Cancer Biology and Metabolism Group, Nuffield Department of Medicine, University of Oxford, Oxford, Royaume-Uni
4. Centre Expert National Cancers Rares Predir, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

**Auteur correspondant :** Guillaud-Bataille Marine (marine.guillaudbataille@gustaveroussy.fr)

La léiomyomatose familiale ou syndrome HLRCC (Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer) est une maladie autosomique dominante qui prédispose à des léiomyomes cutanés et utérins. De plus, des cancers du rein papillaires de type II (PRCCII), particulièrement agressifs et de mauvais pronostic, sont également observés dans environ 20% des familles. Le syndrome HLRCC est dû à des mutations germinales hétérozygotes du gène suppresseur de tumeur FH. Ce gène code une enzyme du cycle de Krebs qui catalyse la transformation du Fumarate en Malate. Les mutations homozygotes ou hétérozygotes composites sont à l'origine de la déficience en Fumarase, maladie métabolique pédiatrique causant des encéphalopathies progressives.

Depuis un précédent travail du laboratoire publié en 2011 (Gardie et al, J Med Genet, 2011), nous avons analysé le gène FH dans 119 nouveaux cas index référés soit par des Dermatologues, soit par des Oncogénéticiens du réseau PREDIR (PREDIposition aux tumeurs du Rein), par séquençage et Q-PCR. Le caractère délétère des nouveaux variants détectés a été confirmé par dosage enzymatique de l'activité fumarate hydratase et/ou immunohistochimie avec un anticorps anti-2SC spécifique des protéines succinylées (Bardella et al, J Pathol, 2011). En effet, le déficit en fumarase entraîne une accumulation de fumarate, qui réagit avec les cystéines des protéines entraînant une modification post-traductionnelle appelée succination.

Nous avons identifié une mutation délétère chez 54 cas index (45%). Ce taux de mutation est beaucoup plus élevé dans les familles présentant un syndrome HLRCC ou une léiomyomatose cutanée (sans atteinte rénale) (89%). En revanche, il est plus faible dans les indications de cancer(s) du rein isolé(s) (6%), cancer du rein et léiomyomes utérins (17%), ou léiomyomes utérins isolés (14%).

Nous avons également analysé 41 apparentés de ces familles mutées, dont 25 (60%) étaient porteurs de la mutation. Parmi les 79 individus mutés (54 cas index et 25 apparentés), 70% présentent une léiomyomatose cutanée, 78% des femmes ont une léiomyomatose utérine, et 9 patients (11%) ont développé un cancer du rein. Parmi les 9 cancers du rein observés, il y a 2 PRCCII, 4 carcinomes papillaires (sans sous-type précisé), 1 carcinome polymorphe avec une composante PRCCII et une composante à cellules claires, 1 oncocytome, et un cancer du rein de type inconnu.

Nous avons identifié 36 mutations différentes du gène FH (13 faux-sens, 9 Frameshift, 7 affectant des sites d'épissage, 3 non-sens, 3 grandes délétions, et 1 délétion en phase). Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation génotype/phénotype, et en particulier pas d'association entre un type de mutation et la présence de cancers du rein dans les familles. Parmi les 36 mutations détectées, 21 n'ont jamais été décrites dans les bases de données ou la littérature, et nous avons validé leur caractère délétère par dosage enzymatique et/ou immunohistochimie.

**Mots-clefs :** Syndrome HLRCC (léiomyomatose cutanée et utérine, cancer du rein), Gène FH fumarate hydratase, Caractérisation fonctionnelle de nouvelles mutations par dosage enzymatique et immunohistochimie



## Oncogénétique

B118/#584

### Approche NGS pour l'analyse des gènes BRCA1 et BRCA2 : Utilisation en routine du kit BRCA MASTR DX Multiplicom sur séquenceur Miseq (illumina)

Virginie GUIBERT (1), Eva TROCHU (2), Céline GARREC (2), Mathilde GIRAUD (2), Fabrice AIRAUD (2), Capucine DELNATTE (2), Stéphane BEZIEAU (2)  
1. Service de génétique, CHU Hotel-Dieu, NANTES, France  
2. Génétique Médicale, CHU Hotel-Dieu, NANTES, France

**Auteur correspondant :** BEZIEAU Stéphane (stephane.bezieau@orange.fr)

#### Contexte :

Les demandes d'analyse des gènes BRCA1 et BRCA2 dans le cadre de l'identification de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire sont croissantes avec notamment un élargissement à des indications thérapeutiques de nature urgente.

La nécessité de développer des techniques rapides de haut débit s'impose afin d'améliorer le délai de rendu des résultats dans le cadre du diagnostic de routine des gènes BRCA1 et BRCA2.

Nous avons mis en place au laboratoire une approche Next generation Sequencing (NGS) qui permet l'analyse de série de 48 patients en 15 jours (temps analytique). Les résultats sont présentés ici.

#### Méthode

48 ADN de patientes qui présentaient un cancer du sein ou de l'ovaire ont été extraits à partir d'un prélèvement sanguin réalisé sur EDTA, puis amplifiés par le kit BRCA MASTRDX (Multiplicom). Ce kit basé sur 5 PCR multiplexes, permet de générer 93 amplicons incluant l'ensemble des régions codantes de BRCA1 et BRCA2.

Une deuxième étape d'amplification permet l'incorporation de codes barres (MID Illumina Miseq de Multiplicom) spécifiques pour chaque patient séquencé ensuite sur MiSeq (Illumina) en 2x 250 bp.

L'analyse bioinformatique des résultats a été réalisée en utilisant le logiciel SeqNext (JSI).

#### Résultats :

Les résultats obtenus ont montré la faisabilité de cette approche NGS avec des résultats très satisfaisants. Tous les amplicons ont été couverts à plus de 40X.

Cette profondeur de lecture obtenue sur le Miseq permet d'envisager la possibilité de travailler sur des séries de 60 patients en routine diagnostic.

Le logiciel d'analyse SeqNext (JSI) a permis un rendu très rapide des résultats sans ambiguïtés.

#### Conclusion :

L'approche Multiplicom/Miseq/SeqNext permet de rendre des résultats fiables en routine et dans des délais courts pour l'étude des gènes BRCA1 et BRCA2 avec un rapport coût-efficacité optimisé. Le marquage CEIVD des kits Multiplicom augmente également la facilité d'intégration de cette stratégie NGS dans la démarche d'accréditation des laboratoires.

**Mots-clefs :** NGS, BRCA1, BRCA2

## Oncogénétique

B119/#598

### Une forme familiale de pilomatricomes comme porte d'entrée du diagnostic de polypose adénomateuse familiale

Nicolas Taris (1), Bérénice Doray (2), Natacha Ketterer (3), Marie-Pierre Buisine (4), François Becmeur (5), Christophe Cordier (1), Christine Maugard (1)

1. Oncogénétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
2. Génétique, CHU Réunion, Saint Denis La Réunion, France
3. Génétique Médicale, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
4. Centre de biologie pathologie génétique, CHRU Lille, Lille, France
5. Chirurgie Infantile, CHU Strasbourg, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Taris Nicolas (ntaris@strasbourg.unicancer.fr)

Les pilomatricomes (ou épithélioma calcifié de Malherbe) sont des tumeurs sous-cutanées fréquentes développées à partir de cellules de la matrice du follicule pileux, survenant à tout âge mais principalement dans les deux premières décades de la vie. Elles se présentent sous forme de lésions nodulaires solitaires localisées le plus souvent au niveau de la tête et du cou, mais aussi des membres et du tronc.

Les formes multiples et les formes familiales sont en revanche plus rares. Elles concernent 5% des formes de l'enfant. Elles ont été décrites en association avec différents syndromes génétiques (syndrome de Turner, trisomie 9, syndrome de Sotos, sclérose tubéreuse de Bourneville, gliomatose cérébrale, syndrome de Rubinstein-Taybi et de Churg-Strauss ainsi que dystrophie myotonique de Steinert).

Nous rapportons ici et discutons le cas d'un jeune homme de 18 ans, qui a présenté dès la naissance un pilomatricome géant de la face opéré à l'âge de 7 mois. Plusieurs lésions sont apparues au niveau du visage ayant nécessité de nouvelles exérèses chirurgicales à 5 ans, 8 ans et 9 ans. Il présente actuellement 4 lésions au niveau des membres supérieurs et inférieurs, des troubles du transit à type de constipation associés à des traces de sang dans les selles. L'histoire familiale retrouve la notion de pilomatricomes chez son père, sa tante, au moins deux de ses oncles et chez son demi-frère âgé de 9 ans. Aucun des membres de la famille n'a pratiqué de coloscopie. Son grand-père paternel est décédé accidentellement à l'âge de 40 ans et son arrière-grand-mère paternelle serait décédée d'une polypose adénomateuse colique.

Une analyse moléculaire sur le gène APC a permis de mettre en évidence la mutation c.5916\_5919delCAGT, p.Ser1973Thrfs\*70. Une prise en charge gastroentérologique a donc été discutée avec le cas-index, les risques de cancer du colon lui ayant été exposés et une prise en charge de l'ensemble de la famille a été proposée.

Cette observation souligne l'importance d'un conseil génétique devant l'existence de pilomatricomes multiples. Elle vise à rappeler que ce type de lésions cutanées peut constituer un signe d'appel vers des pathologies digestives héréditaires, nécessitant une prise en charge spécifique, à savoir les polyposes adénomateuses familiales associées au gène APC mais également les polyposes associées au gène MUTYH.

**Mots-clefs :** pilomatricomes, polypose adénomateuse familiale, diagnostic

## Oncogénétique

B120/#599

### PSI-Com: Prédilection au cancer du sein BRCA1/2 et du côlon HNPCC : comparaison des facteurs PSychologiques, médicaux et émotionnels Influçant la Communication et la réalisation des tests Oncogénétiques.

Virginie Galibert (1), Ornella Mophawé (2), Nathalie Alegre (2), Isabelle Coupier (2), Pascal Pujol (2)

1. Unité d'Oncogénétique, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Unité d'oncogénétique, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** Galibert Virginie (vigalibert@gmail.com)

La pratique en oncogénétique a des spécificités propres régissant la diffusion familiale du résultat d'une analyse génétique réalisée chez un "cas index". Légalement seul le cas index pouvait informer sa parentèle de l'identification d'une anomalie génétique, il avait donc un rôle de "messenger". Les chiffres de l'Institut National du Cancer (INCa) montrent que le nombre de tests réalisés par famille est inférieur à 3. Une observation dans l'unité d'oncogénétique de Montpellier a mis en évidence que le nombre d'apparentés testés était bien en deçà du nombre d'apparentés susceptibles de bénéficier de cette analyse et, donc, d'un conseil génétique personnalisé. C'est en partant de cette constatation que le projet PSI-Com a été conçu. Il explore des facteurs psychologiques, médicaux et sociodémographiques afin de déterminer leurs influences dans la communication intrafamiliale. Il nous a paru intéressant de nous focaliser sur deux gènes de prédisposition au cancer, à savoir BRCA 1 et 2 (risque accru de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire) et les gènes du système MMR (risque augmenté de développer un cancer colorectal et/ou de l'endomètre).

Le CHU de Nîmes ainsi que le Centre Jean Perrin de Clermont-Ferrand sont associés à ce projet permettant un recrutement de patients plus important et affinant la qualité des données récoltées. En date du 31 Octobre 2013, 75% des patients ont été inclus. Les patients recrutés dans les différents centres sont reçus en entretien conjoint ARC et psychologue. Durant cet échange une mise à jour des données sociales et médicales (personnelles et familiales) est réalisée. Le patient spécifie ensuite quelles sont les personnes informées dans sa famille et la manière dont elles l'ont été. Ici, il peut s'exprimer quant à son vécu de cette « mission de messenger ». Dans un second temps une batterie d'auto-questionnaires psychologiques est proposée au patient, investiguant des facteurs tels que l'anxiété, la dépression, le soutien social et familial mais aussi les stratégies de coping, l'alexithimie et la répression émotionnelle.

L'analyse de l'ensemble de ces éléments pourrait nous aider à mieux comprendre les facteurs susceptibles d'influencer la communication intrafamiliale et d'ainsi ajuster l'accompagnement de nos patients, notamment en termes d'information spécialisée et de suivi. Il faut noter que la pratique a changé depuis le décret n°2013-527 du 20 juin 2013, relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale. Dorénavant, le cas index n'est plus le seul à pouvoir informer ses apparentés : S'il se sent dans l'impossibilité de transmettre personnellement l'information, il peut s'en remettre à l'oncogénéticien. Pour autant, il semble que la tâche du cas index reste lourde et justifie que l'on maintienne une réflexion vive sur les implications psychologiques de son rôle, ce à quoi s'attèle le projet PSI-Com.

**Mots-clefs :** transmission familiale, facteurs psychologiques, médicaux et sociodémographiques, gènes de prédisposition BRCA1 et 2 et MMR

## Oncogénétique

B121/#606

### Recherche d'un effet fondateur de la mutation c.5993\_5994delAA (p.Gln1998Argfs\*4) dans l'exon 11 du gène BRCA2

Céline Garrec (1), Virginie Guibert (2), Barbara Berki (1), Dominique Vaur (3), Christine Toulas (4), Fabrice Airaud (1), Capucine Delnatte (1), Stéphane Bézieau (1)

1. Génétique Médicale, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France
2. Génétique médicale, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France
3. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer, Centre François Baclesse, Caen, France
4. Laboratoire d'oncogénétique, CRLCC Institut Claudius Regaud, Nantes, France

**Auteur correspondant :** Garrec Céline (celine.garrec82@orange.fr)

Les gènes BRCA1 (17q21) et BRCA2 (13q12) sont des gènes majeurs de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire, de transmission autosomique dominante. Les nombreux variants délétères retrouvés dans ces deux gènes sont distribués tout le long des régions codantes et des jonctions introns-exons. Dans certaines populations, des mutations s'avèrent particulièrement fréquentes, ceci étant lié à un effet fondateur. Un exemple bien connu est celui de la population juive ashkénaze, dans laquelle les mutations c.68\_69del (185delAG), c.5266dup (5382insC) dans le gène BRCA1 et c.5946del (6174delT) dans le gène BRCA2, sont fondatrices.

Dans le laboratoire de Génétique Moléculaire de Nantes, nous avons identifié la mutation du gène BRCA2 c.5993\_5994delAA (p.Gln1998Argfs\*4) dans trois familles originaires de Brière, une région située à l'Ouest de département de la Loire Atlantique, ayant un taux d'endogamie relativement élevé. Le but de notre étude est donc de déterminer si la présence de cette mutation dans cette région repose sur un effet fondateur.

Nous avons tout d'abord étudié douze patients issus de trois familles briéronnes. L'ADN avait été extrait à partir du sang périphérique à l'aide du kit Nucléon BACC GE Healthcare. Dans un premier temps, cinq marqueurs microsatellites (D13S1287, D13S1701, D13S171 et deux marqueurs microsatellites non référencés), couvrant une région de 1,5 Mb de part et d'autre de BRCA2, ont été utilisés. L'amplification des régions contenant les microsatellites a été réalisée à l'aide d'amorces couplées au fluorophore 6-FAM. L'électrophorèse capillaire a été réalisée sur l'automate ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystem), et le logiciel GeneMapper® v4.0 (Applied Biosystem) a permis l'analyse des données.

L'haplotype associé à l'allèle muté est identique dans les trois familles. Les résultats de cette première analyse sont donc compatibles avec un effet fondateur. Nous montrerons les résultats de l'étude d'autres marqueurs microsatellites de part et d'autre des marqueurs décrits précédemment, qui permettront de délimiter précisément la région commune autour de la mutation. De même, nous exposerons les résultats de l'étude de quatre autres familles issues d'un recrutement national dans lesquelles la même mutation délétère c.5993\_5994delAA (p.Gln1998Argfs\*4) a été détectée. Nous essaierons également de dater l'apparition de la mutation dans ces familles.

**Mots-clefs :** Prédilection aux cancers du sein et de l'ovaire, BRCA2, effet fondateur

## Oncogénétique

**B122/#610**

### RNAseq ciblé mammaire et leucocytaire de gènes de la prédisposition aux cancers du sein et/ou de l'ovaire

Grégoire Davy (1), Antoine Rousselin (1), Laurent Castéra (1), Nicolas Goardon (1), Olivia Bruet (1), Angéline Legros (1), Jean-Jacques Baumann (1), Catherine Bor (2), Jacques Marnay (2), Thierry Frébourg (3), Dominique Vaur (1), Sophie Krieger (1)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CLRC François Baclesse, Caen, France
2. Service de Pathologie, CLRC François Baclesse, Caen, France
3. Département de Génétique, CHRU de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Davy Grégoire (g.davy@mail.baclesse.fr)

Une des limites essentielles au diagnostic des formes héréditaires de cancer du sein et de l'ovaire est le nombre élevé de Variants de Signification Inconnue (VSI) détectés dans les gènes BRCA1 et BRCA2 et ce problème s'étend maintenant aux autres gènes impliqués ou susceptibles dans cette prédisposition et inclus dans les panels de Séquençage de Nouvelle Génération (NGS). Une fraction importante de ces VSI est susceptible d'altérer l'épissage de l'ARNm, leur impact est évalué par des algorithmes de prédiction, des tests *ex vivo* d'épissage et par RT-PCR effectuée à partir du sang périphérique. Actuellement aucune donnée ne permet d'affirmer que le profil d'épissage et que les anomalies d'épissage observés à partir des ARN leucocytaires et des ARN des cellules épithéliales mammaires sont similaires. Le but de notre étude est de comparer, quantitativement et qualitativement, dans le tissu mammaire et dans les leucocytes d'individus sains, les épissages alternatifs physiologiques d'un panel de gènes impliqués dans la prédisposition aux cancers du sein ou de l'ovaire. Nous avons étudié par RNA-Seq huit échantillons d'ARNm. Quatre échantillons étaient issus d'un même prélèvement de tissu mammaire sain. Pour ce prélèvement, un échantillon tissulaire a été inclus en paraffine, les trois autres ont été congelés et l'un d'entre eux a été microdissecté afin d'isoler les lobules mammaire. Quatre prélèvements sanguins ont été recueillis sur tube Paxgene®, deux provenant de patientes présentant des mutations du gène BRCA2, affectant l'épissage, les deux autres de sujets contrôles sans histoire familiale de cancer. Les librairies d'ADNc ont été générées à partir d'ARNm purifiés soit par capture poly(T), soit par déplétion en ARNr, à partir de 600 ng à 1 µg d'ARN total. Cinq ng à 1000 ng de librairies ont été synthétisées, puis indexées et « poolées » après enrichissement en phase liquide, capturant spécifiquement les exons de 28 gènes : ATM, BAP1, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, PALB2, PMS1, PMS2, PTEN, RAD50, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D, STK11, TP53, XRCC2, XRCC3. Le séquençage effectué sur une plateforme Illumina® (MiSeq®) en paired-end 2x150pb, a généré 2.6Gbases de données dont 97% avec un Q-score > 30. L'analyse bioinformatique des premières données permet d'observer des différences significatives d'expression entre les gènes et entre les tissus, nécessitant par la suite d'optimiser la capture en fonction du niveau d'expression d'un gène dans un tissu donné. Le taux de couverture des transcrits du tissu microdissecté ne permet pas une analyse fiable, nécessitant d'adapter la préparation de la librairie. Une analyse approfondie permettra d'évaluer si il existe un biais de couverture du transcrit de la région 5'UTR par rapport à la région 3'UTR liée à la capture poly(T) et de comparer qualitativement et quantitativement les transcrits du panel de gènes en fonction de l'origine leucocytaire ou mammaire.

**Mots-clefs :** RNAseq ciblé, Tissu mammaire, Prédisposition aux cancers sein/ovaire

## Oncogénétique

**B123/#636**

### Un premier cas de conversion génique dans le gène BRCA1 ?

Chloé Tessereau (1), Mélanie Léoné (2), Monique Buisson (3), Sylvie Mazoyer (3), Olga Sinilnikova (4)

1. Centre de Recherche en Cancérologie, Centre Léon Bérard, Lyon, France
2. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers, Hospices Civils de Lyon/Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon/Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Mazoyer Sylvie (sylvie.mazoyer@lyon.unicancer.fr)

#### Introduction

Les réarrangements génomiques issus d'évènements de recombinaison homologue non allélique sont à l'origine de nombreux cas de pathologies héréditaires. Ce type de réarrangement est favorisé par les régions d'ADN présentes dans le génome en plusieurs copies et ayant une homologie de séquence très élevée (> 95%). Ainsi, nous avons identifié il y a une dizaine d'années un point chaud de recombinaison dans le locus BRCA1. Ce point-chaud résulte de la duplication chez les primates des exons 1a, 1b et 2 de BRCA1, ce qui a conduit à l'apparition d'un pseudogène (BRCA1P1) situé à environ 30 kb de BRCA1 en position télomérique. Des évènements distincts de recombinaison entre l'intron 2 de BRCA1 et l'intron 2 de BRCA1P1 conduisent à des délétions de 37 kb qui ont été identifiées dans de nombreuses familles de cancer du sein d'origines diverses. On observe dans les allèles mutés un remplacement des 2 premiers exons de BRCA1 par ceux du pseudogène, conduisant à la perte du promoteur et du codon d'initiation de la traduction (situé dans l'exon 2) puisque l'exon 2 de BRCA1P1 diverge au niveau de ce codon. Ce type de réarrangement est maintenant systématiquement recherché dans les tests diagnostiques de routine à l'aide d'un essai PCR dédié utilisant une amorce sens complémentaire d'une séquence du pseudogène et une amorce antisens complémentaire d'une séquence du gène BRCA1 et permettant donc l'amplification d'un petit fragment uniquement lorsque ces séquences sont rapprochées.

#### Résultats

Bien que nous ayons obtenu pour une patiente ayant une forte histoire familiale de cancer du sein un résultat positif pour le test PCR décrit ci-dessus à partir d'ADN extrait de deux prélèvements sanguins, le résultat du test MLPA n'était pas en faveur d'une délétion des exons 1 et 2. Le séquençage du fragment amplifié a confirmé la juxtaposition de séquences homologues au pseudogène avec des séquences homologues au gène, tout comme ce qui est observé dans le cas des délétions de 37 kb. Cependant, l'analyse de l'ADN de la patiente par FISH sur ADN étiré (ou peignage moléculaire) a montré un profil semblable à celui des témoins, confirmant l'absence de délétion et rendant vraisemblable l'hypothèse d'une conversion génique. Le caractère pathogène de cet évènement reste à démontrer.

#### Conclusion

L'utilisation d'au moins deux techniques différentes permettant de mettre en évidence des réarrangements est indispensable, surtout pour ceux concernant la région située en amont du gène BRCA1 où la présence d'un pseudogène favorise non seulement les délétions et les duplications, mais peut également favoriser les conversions.

**Mots-clefs :** cancer du sein et de l'ovaire, diagnostic moléculaire, réarrangement génomique

## Oncogénétique

B124/#656

### Cancer du pancréas familial : identification d'une mutation constitutionnelle inactivant un gène spécifiquement exprimé dans le tissu pancréatique

Anne Couvelard (1), Jérôme Cros (1), Pascal Hammel (2), Hui-Han Hu (3), Olivier Ingster (4), Philippe Jonveaux (5), Mickael Mary (3), Melissa Parrin (3), Angélique Riffault (3), Philippe Ruszniewski (6), Nadem Soufir (3)

- Département d'Anatomopathologie, Hôpital Bichat, APHP, Université Paris 7, Paris, France
- Département de Gastro-Entérologie, Hôpital Beaujon, APHP, Université Paris 7, Clichy-la-Garenne, France
- Département de Génétique, Hôpital Bichat, APHP, Université Paris 7, Paris, France
- Oncogénétique, CHU Angers, Angers, France
- Département d'Oncogénétique, CHU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
- Département de Gastro-Entérologie, Hôpital Beaujon, APHP, Université Paris 7, Paris, France

**Auteur correspondant :** Soufir Nadem (nadem.soufir@bch.aphp.fr)

#### Introduction

Dans la prédisposition au cancer du pancréas familial (CaPaFa), on connaît actuellement peu de gènes de susceptibilité (BRCA2, CDKN2A, STK11 et PALB2). Ils sont impliqués dans moins de 10% de ces formes héréditaires. CDKN2A est un gène suppresseur de tumeur qui code pour différents transcrits : p16INK4A et p14ARF exprimés de manière ubiquitaire, et un transcrit spécifiquement exprimé dans le pancréas, p12.

Afin de chercher d'autres gènes de susceptibilité, nous avons réalisé une série d'exomes dans des familles de CaPaFa.

#### Patients et Méthodes

Douze familles, comportant au moins 3 apparentés atteints d'adénocarcinome du pancréas vues en consultation d'oncogénétique, ont été sélectionnées pour ce travail après signature d'un consentement éclairé. L'ADN lymphocytaire (5 microgrammes) d'un cas index par famille a été étudié (Kit Agilent V4, couverture moyenne 50 X, séquenceur Illumina Hi Seq 2000). Après analyse bio-informatique, les variants ayant une fréquence allélique < 1%, de type non-sens, frameshift, d'épissage et faux sens ont été retenus. Les résultats ont été confirmés par séquençage classique (méthode de Sanger) et il était prévu de confirmer l'implication du ou des gènes(s) d'intérêt identifiés sur un groupe indépendant de 87 familles CaPaFa.

#### Résultats

L'analyse d'exomes a permis de caractériser un variant non-sens inconnu du gène CDKN2A, n'affectant ni le cadre de lecture p16INK4A et p14ARF, mais touchant spécifiquement le cadre de lecture de p12 (g.21974637, C>T, p.Arg64Ter). Cette mutation a été confirmée par séquençage. La famille comportait 3 cas de cancer dont deux au 1er degré et pas d'autre mutation des gènes déjà décrits dans les CaPaFa.

Un séquençage de la région génomique codant pour p12 a ensuite été conduit chez les cas index des 87 familles et seule une famille porteuse d'une mutation du gène CDKN2A déjà identifiée (insertion en phase de deux alanines au nucléotide 21974769) a été confirmée. De manière intéressante, cette mutation étant située dans l'exon 1-alpha de p16INK4A, elle affectait donc également p12.

Dans la littérature, 45% des mutations de CDKN2A décrites dans les CaPaFa étaient situées dans l'exon 1-alpha et touchaient donc le transcrit spécifique du pancréas p12.

#### Conclusion

Nos résultats suggèrent un rôle spécifique de p12 dans la prédisposition héréditaire au cancer du pancréas familial, non décrit auparavant. L'étude de ce transcrit pourrait être proposée de façon systématique dans les CaPaFa pour optimiser le conseil génétique et aider à sélectionner les apparentés devant faire l'objet d'un dépistage de lésions précancéreuses.

**Mots-clefs :** Cancer du pancréas, CDKN2A-p12, Prédisposition génétique

## Oncogénétique

B125/#673

### Des mutations tronquantes du gène TP53AIP1 sont associées à une prédisposition au mélanome

Meriem BENFODDA (1), Vincent Descamps (2), Steven Gazal (3), Bernard Grandchamp (1), Hui-Han Hu (1), Angélique Riffault (1), Philippe Saiag (4), Nadem Soufir (1)

- Département de génétique, Hôpital Bichat AP-HP, Paris, France
- Service de dermatologie, Hôpital Bichat AP-HP, Paris, France
- UMR S738, Faculté de médecine, Xavier Bichat, Paris, France
- Service de dermatologie, Hôpital Ambroise Paré AP-HP, Boulogne Billancourt, France

**Auteur correspondant :** Benfodda Meriem (bio1\_meri@hotmail.fr)

#### Introduction

Au moins 2 gènes majeurs (CDKN2A, CDK4) sont impliqués dans la susceptibilité au mélanome familial et/ou multiple, et une vingtaine d'allèles de pénétrance faible ou intermédiaire ont été identifiés (MC1R, MITF...). Cependant, l'héritabilité manquante dans le mélanome (MM) est importante, supérieure à 70%. Dans ce travail, nous avons réalisé une étude d'exomes chez 32 patients atteints de MM, afin d'identifier d'autres facteurs génétiques de susceptibilité au MM.

#### Matériels et méthodes

Un séquençage d'exomes a été réalisé sur l'ADN constitutionnel de 32 malades atteints de MM familial (13 familles, 2 patients atteints par famille) ou multiples sporadiques (6 patients). Le séquençage a été réalisé à l'aide du Kit Agilent de capture V4, à une profondeur moyenne de séquençage 50X, sur HiSeq 2000 Illumina. Après alignement sur le génome de référence hg19, l'analyse des variants a été faite grâce au logiciel DNA nexus. Le filtrage des variants a porté en priorité sur les variants non-sens, décalant le cadre de lecture inconnus et/ou dont la fréquence allélique est inférieure à 1%.

#### Résultats

Deux mutations tronquantes du gène TP53AIP1 ont été identifiées chez 3 malades : un variant frameshift c.63\_64insG, p.Q22Afs\*81 présent chez un patient atteint de MM multiple et un variant non-sens c.95C>A, p.Ser32Stop présent chez 2 patients atteints de MM de la même famille. Nous avons ensuite séquençé le seul exon codant du gène TP53AIP1 chez 1126 patients atteints de MM (337 MMs familiaux, 781 MMs sporadiques dont 24% de MMs multiples), et chez 1230 contrôles caucasiens de l'établissement français du sang sans antécédent personnel ni familial de cancer cutané. Le variant frameshift c.63\_64insG était présent chez 17 patients et 6 contrôles; la mutation Ser32Stop, présente chez 3 patients et un contrôle. La présence de variants tronquants de TP53AIP1 était fortement associée au risque de mélanome (P value = 0.006, Odds Ratio = 3.16 [1.26-8.24]).

#### Discussion

Le gène TP53AIP1 code pour la protéine P53AIP1, protéine cible de P53 et localisée au niveau de la mitochondrie. C'est un gène suppresseur de tumeur qui joue un rôle important dans l'apoptose en réponse aux dommages causés par les UVs. Des mutations constitutionnelles de TP53AIP1 avaient été impliquées au préalable dans la susceptibilité au cancer de la prostate. Nos résultats suggèrent également un rôle important de ces variants dans la susceptibilité au MM.

#### Conclusion

Ce travail nous a permis de démontrer l'implication de mutations rares délétères du gène TP53AIP1 dans la prédisposition au MM. Des études de ségrégations des mutations tronquantes dans les familles de MM et des études de répliquations dans d'autres populations sont en cours de réalisation.

**Mots-clefs :** Mélanome, TP53AIP1, Prédisposition



## Oncogénétique

B126/#685

### Polymorphisme C677T de la méthylène-tétrahydrofolate réductase et risque de leucémies myéloïdes chez des patients marocains

Hind Dehbi (1), Yaya Kassogue (1), H Idrissi Hassani (1), Sanaa Nassereddine (1), Mariem Qachouh (2), Asmaa Quessar (2), Sellama Nadifi (1)  
1. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc.  
2. Service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc.

**Auteur correspondant :** Dehbi Hind (dehbi@labgenmed.com)

La leucémie est un groupe hétérogène de pathologies, due à des altérations génétiques des cellules hématopoïétiques provoquant la prolifération clonale de précurseurs hématopoïétiques immatures et le blocage dans leurs différenciations. L'enzyme 5,10- méthylène-réductase, impliquée dans le métabolisme des folates, est codée par le gène MTHFR. Plusieurs mutations ont été identifiées sur ce gène dont un polymorphisme C677T, qui, à l'état homozygote ou hétérozygote est corrélée avec la susceptibilité au cancer en influençant l'état de méthylation de l'ADN génomique et sa synthèse.

Le but de cette étude cas- témoin est d'évaluer l'association entre le polymorphisme C677T du gène MTHFR avec la leucémie myéloïde aiguë (LAM) et chronique (LMC). Elle a concerné 200 patients atteints de leucémie myéloïde LAM (n = 100), LMC (n = 100), et 100 cas témoins sains appariés selon l'âge et le sexe.

Le génotypage pour le polymorphisme C677T MTHFR a été réalisé en utilisant la méthode PCR-RFLP, après extraction de l'ADN génomique par la méthode aux sels. La substitution de C à T au niveau du nucléotide 677 de la région codante du gène de la MTHFR crée un site de restriction pour l'enzyme HinfI. Les produits de PCR amplifiés et digérés montrent les fragments suivants: deux fragments de 175 pb et 23 pb pour homozygotes (TT), trois fragments de 198, 175 et 23 pb pour hétérozygote (CT) et une bande de 198 pb pour homozygote (CC).

La moyenne des fréquences génotypiques CC, CT et TT du total des cas de leucémie étaient 66,3 %, 20,01% et 10,45 % des cas, et 71, 1%, 25,4% et 3, 8% chez les témoins sains, respectivement. La fréquence moyenne de l'allèle T a été 22,3% parmi les cas par rapport à

15,9% chez les témoins. Nous avons observé une fréquence plus élevée du génotype TT dans les cas de leucémie par rapport aux contrôles. Et bien que la fréquence de l'allèle T est modérément élevée dans les LAM, aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée, et d'autre part aucune association statistiquement significative n'a été observée dans les de LMC.

**Mots-clefs :** leucémies, polymorphisme C677T, MTHFR

## Oncogénétique

B127/#689

### Difficultés diagnostiques dans le cadre de la neurofibromatose de type 2 en mosaïque : Retour d'expérience Rhône-Alpin.

Stéphane Pinson (1), Alain Drouet (2), Vincent Des Portes (3), Carmine Motolese (4)

1. Service de Génétique moléculaire et clinique, HCL - Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
2. Service de Neurologie, HIA Desgenettes, Bron, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Mère Enfant, Bron, France
4. Service de neurochirurgie, HCL - Hôpital neurologique, Bron, France

**Auteur correspondant :** Pinson Stéphane (stephane.pinson@chu-lyon.fr)

**Introduction.** - La neurofibromatose de type 2 est une maladie génétique rare de transmission autosomique dominante où les manifestations inaugurales diffèrent chez l'enfant et l'adulte.

**Patients et méthode.** - Une étude clinique, paraclinique et moléculaire comportant une recherche de mutation est effectuée chez un homme et son fils atteints de NF2.

**Résultats.** - Nous rapportons le cas d'un homme de 43 ans qui avait débuté une forme sévère de NF2 par des signes cochléo-vestibulaire à l'âge de 19 ans secondaire à des neurinomes vestibulaires bilatéraux.

Il fut décelé chez son fils souffrant depuis sa première année d'une amblyopie de l'œil droit en lien avec un hamartome rétinien, des schwannomes multiples (nerfs mixtes gauches et VIII bilatéral a minima) asymptomatiques à l'âge de 9 ans. Une délétion partielle des exons 2 à 7 fut détectée dans les leucocytes du fils mais pas dans ceux du père orientant le diagnostic de NF2 en mosaïque pour ce dernier.

**Conclusions.** - Les critères diagnostics de NF2 doivent être recherchés dès la première année dans les populations à risque. Les signes ophtalmologiques peuvent révéler particulièrement tôt chez l'enfant et devrait faire suspecter le diagnostic de NF2 jusqu'à preuve du contraire.

Une forme en mosaïque sans mutation constitutionnelle détectée peut présenter un tableau clinique sévère et conserve un risque de transmission dépendant du pourcentage de gamètes porteurs de l'anomalie.

Le suivi doit être organisé tout au long de la vie au mieux dans un centre spécialisé.

**Mots-clefs :** Neurofibromatose, NF2, Mosaïque

## Oncogénétique

**B128/#694**

### Etude des variants d'épissage de BRCA1 et BRCA2 à l'aide du séquenceur PGM

Agnès COLLET (1), Julien TARABEUX (2), Virginie MONCOUTIER (2), Lisa GOLMARD (3), Anthony LAUGE (4), Quentin LEROY (5), Thomas RIO FRIO (5), Elodie GIRARD (6), Nicolas SERVANT (6), Claude HOUDAYER (7), Dominique STOPPA-LYONNET (7)

1. Laboratoire de Génétique - INSERM U954, CHU de Nancy - Université de Lorraine, VANDOEUVRE LES NANCY, France
2. Service de Génétique, Institut Curie, PARIS, France
3. Service de Génétique - INSERM U830, Institut Curie, PARIS, France
4. Service de Génétique, Institut Curie, PARIS, France
5. Plateforme NGS, Institut Curie, PARIS, France
6. INSERM U900, Institut Curie, PARIS, France
7. Service de Génétique - INSERM U830, Institut Curie - Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, PARIS, France

**Auteur correspondant :** COLLET Agnès (agnescollet@icloud.com)

Le séquençage à haut-débit (Next Generation Sequencing ou NGS) à l'aide du Personal Genome Machine (PGMTM - Life Technologies<sup>TM</sup>) est désormais une technique bien développée dans l'étude diagnostique des gènes BRCA1 et BRCA2. Elle permet une recherche rapide et sensible de la présence de variants génomiques qui répond pleinement aux exigences diagnostiques actuelles. L'exploitation de cet outil pourrait s'avérer très utile dans l'étude des variants d'épissage mais reste à évaluer. Nous rapportons nos premiers résultats en termes de détection et quantification des différents transcrits alternatifs et anormaux pour BRCA1 et BRCA2.

Dix-huit patients présentant des mutations de BRCA1 et BRCA2 déjà connues comme altérant l'épissage ont été inclus, ainsi qu'un témoin présentant une délétion génomique de l'exon 3 de BRCA1. Afin d'évaluer d'éventuelles expressions tissu-spécifiques, trois types de prélèvements ont été analysés pour chaque patient : lignée lymphoblastoïde traitée ou non par puromycine et tissu mammaire sain.

Après extraction des ARN et transcription inverse, les ADN complémentaires obtenus pour chaque prélèvement ont été amplifiés à l'aide d'amorces ciblées. L'ensemble des exons (à l'exception des exons 11 de taille supérieure à 3 kb) était couvert par des amplicons chevauchants pour ces deux gènes (6 amplicons de 500 pb pour BRCA1 et 3 amplicons de 2 kb pour BRCA2). Les différents amplicons obtenus ont été fragmentés, liés à un code-barre d'identification puis séquençés ensemble par PGM à l'aide de puces 318V2 et de kits de séquençage en 200pb et 400pb.

Les résultats obtenus ont été analysés à l'aide de deux approches bio-informatiques distinctes. Une première analyse a été effectuée à l'aide du logiciel NextGENe® (Softgenetics®) et de deux de ses modules d'analyse (alignement génomique et analyse transcriptomique). Une seconde analyse a été réalisée à partir des alignements effectués à l'aide d'outils académiques (TopHat) et visualisés dans Alamut® (Interactive BioSoftware).

Les différentes isoformes attendues (transcrits anormaux et alternatifs) ont bien été séquençées dans tous les types d'échantillons (y compris ceux non traités par puromycine). Un phénomène d'exonisation de séquences introniques a également été mis en évidence : ces inclusions apparaissant de manière très minoritaire au sein des transcrits détectés (environ 1 à 5%). La méthode d'alignement des reads influence la qualité d'analyse des données. L'interprétation et la visualisation des résultats à l'aide des outils actuellement disponibles restent encore délicates et inadaptées au diagnostic.

L'utilisation du séquençage à haut-débit pour l'étude de l'impact des variants d'épissage est prometteuse. Elle autorise une vue d'ensemble qualitative et quantitative des différents transcrits séquençés. Cependant, son transfert dans le domaine diagnostique nécessite encore la mise au point d'outils d'analyses bio-informatiques adaptés à ce champ d'application.

**Mots-clefs :** épissage, BRCA ARN, PGM

## Oncogénétique

**B129/#710**

### Intérêt du criblage systématique par recherche d'instabilité des microsatellites des cancers de l'endomètre diagnostiqués avant 61 ans pour l'identification de syndrome de Lynch en l'absence d'antécédents familiaux connus ou avérés.

Anne Schneider (1), Gerlinde Averous (2), Christophe Cordier (3,4), Nicolas Taxis (3,4), Philippe Becquard (3,4), Céline Cuny-Schmitt (5), Saméa Samimi (5), Marie-Pierrette Chenard (6), Marie-Pierre Gaub (1), Christine M Maugard (3,5)

1. Plateforme de Génétique Moléculaire des Cancers d'Alsace, Laboratoire de Biologie moléculaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Département de pathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. UF6948 Oncogénétique évaluation familiale et suivi, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
5. UF1422 Oncogénétique Moléculaire, Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Interface de Pathologie Moléculaire, Département de Pathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** MAUGARD CHRISTINE (christinemaugard@gmail.com)

Fin 2010, nous avons redéfini nos stratégies d'analyse pour les gènes de prédisposition aux cancers du colon et de l'endomètre dans l'unité d'oncogénétique moléculaire du laboratoire de diagnostic Génétique. Un référentiel a été rédigé avec la plateforme de Génétique Moléculaire des Cancers et l'interface de Pathologie Moléculaire des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS). La recherche systématique d'une instabilité des microsatellites chez les femmes développant un cancer de l'endomètre avant 61 ans a été initiée. Les analyses somatiques ont été menées selon les critères de qualité ainsi définis.

Nous avons voulu vérifier l'intérêt de ce criblage systématique en revoyant les résultats obtenus entre janvier 2011 et décembre 2012. Les travaux menés par Pennington et al (Cancer. 2013) utilisant le séquençage massif en parallèle mettant en évidence une faible association des carcinomes séreux utérins avec les gènes impliqués dans la réparation des mésappariements de l'ADN, nous avons également voulu préciser le type histologique associé au phénotype instable.

Sur 47 tumeurs de l'endomètre ayant bénéficié d'une recherche d'instabilité des microsatellites pendant cette période, 20 répondent aux critères définis pour le criblage systématique: diagnostic < 61 ans, criblage effectué indépendamment de la notion d'antécédents familiaux. Ont été exclues les tumeurs pour lesquelles l'analyse somatique avait été prescrite par un consultant en oncogénétique.

Parmi ces 20 tumeurs, 7 (35%) ont été identifiées comme hautement instable (MSI-H), 3 (15%) comme faiblement instable (MSI-L), 6 (30%) comme stable (MSS). Pour 4 d'entre elles, aucune conclusion n'a été possible (absence simultanée de déséquilibres alléliques et d'instabilité des microsatellites sur l'ADN analysé). Toutes les tumeurs MSI-H sont des adénocarcinomes endométrioïdes, pour la majorité de bas grade (5/7 grade 1), de même que 2 des tumeurs MSI-L, la troisième étant un adénosarcome müllérien.

Deux patientes ayant développé un cancer de l'endomètre de type endométrioïde, respectivement à 44 et 51 ans, ont été adressées à la consultation d'oncogénétique des HUS. Leur tumeur était MSI-H. Aucune histoire familiale de cancers n'a été retrouvée. Une perte d'expression des protéines MSH2 et MSH6 ayant été observée sur la tumeur, l'analyse constitutionnelle de ces gènes est en cours dans le laboratoire de diagnostic génétique.

Ce travail met en avant l'absence de type séreux chez les patientes dont la tumeur est MSI-H ou -L. Elle confirme l'intérêt du criblage somatique systématique chez les patientes atteintes d'un cancer de l'endomètre, en particulier pour les adénocarcinomes endométrioïdes. Ce criblage peut permettre de proposer une consultation

d'oncogénétique à des cas isolés de cancers de l'endomètre et de diagnostiquer de nouvelles familles de syndrome de Lynch. Finalement, il souligne l'importance d'informer la communauté gynécologique sur cette porte d'entrée dans ce syndrome.

**Mots-clés :** Instabilité des microsatellites, Cancer de l'endomètre, Syndrome de Lynch

## Oncogénétique

**B130/#712**

### Un pas de plus vers le séquençage au haut débit: transfert du diagnostic mutationnel BRCA sur le Miseq

Florence Coulet (1), Erell Guillerm (1), Filipe Pires (1), Salim Bakas (1), Gaelle Legrand (1), Annie Minière (1), Murielle Renard (1), Marie-Christine Waill (1), Mélanie Eyries (1), Chrystelle Colas (1), Florent Soubrier (1)

1. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Coulet Florence (florence.coulet@yahoo.fr)

La réduction des délais de rendu de résultat pour le criblage des gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire BRCA1 et BRCA2 restait jusqu'alors un challenge pour les laboratoires d'oncogénétique. Malgré un transfert de technologie vers le séquençage de nouvelle génération déjà réalisé au sein de notre laboratoire grâce au couplage d'amplifications multiplex (BRCA MASTRTM Dx, certifié CE/IVD) et du séquençage 454 sur le GSJunior, les délais de rendu de résultat restaient insatisfaisants.

Nous présentons le transfert du diagnostic mutationnel BRCA vers le Miseq, un séquenceur de débit plus élevé (7,5 Gb par run). Ce transfert nécessite seulement une modification de la 2e étape de PCR consistant à incorporer les codes barres spécifiques de chaque patient ainsi que les adaptateurs de séquence spécifiques du Miseq (P5, P7). Les étapes de génération de clusters et de réaction du séquençage par synthèse (2x250) remplacent les étapes d'émulsion PCR, enrichissement et pyroséquençage nécessaires sur le GSJunior. Ces étapes sont automatisées sur le Miseq libérant ainsi du temps-technicien. L'analyse bioinformatique des résultats est faite grâce à l'utilisation du logiciel SeqNext, une adaptation des paramètres d'analyse étant nécessaire pour les données issues du Miseq. La validation du test a été faite sur 56 patients de génotypes connus analysés sur le GS Junior. Tous les variants précédemment identifiés (n=491) ont été détectés sur le Miseq : 448 polymorphismes, 23 mutations délétères (2 faux-sens, 2 nonsens, 1 mutation d'épissage et 18 mutations avec décalage du cadre de lecture) dont 4 situées dans des homopolymères. Le diagnostic de routine a été mis en place pour des séries de 48 patients par run permettant d'atteindre une grande profondeur de lecture (4000X en moyenne par amplicon) et donc une analyse bioinformatique fiable évitant tout complément par séquençage Sanger. Deux séries de 48 patients ont ainsi été analysées. Avec l'approche amplification multiplex (BRCA MASTRTM Dx) et séquençage par synthèse sur Miseq, une série de 48 patients depuis l'extraction d'ADN jusqu'au rendu du résultat est réalisée par un technicien en 10 jours ouvrables, validation médicale incluse. De plus, avec cette technique le coût du séquençage par patient est divisé par un facteur 6. Le seul inconvénient de cette approche est la nécessité d'équipements informatiques performants permettant le stockage et l'analyse de fichiers volumineux. Grâce à l'utilisation du Miseq, la perspective d'un rendu de résultat en temps réel pour les prédispositions au cancer du sein et de l'ovaire est enfin envisageable pour les laboratoires hospitaliers publics. Ces approches permettront de répondre au mieux aux situations dans lesquelles l'attente du statut mutationnel constitue une urgence, situations telles que la pratique de chirurgie prophylactique controlatérale au décours d'une chirurgie carcinologique mammaire ou la mise en place de thérapies ciblées (Anti PARP).

**Mots-clés :** cancer du sein, BRCA, NGS

## Oncogénétique

**B131/#723**

### Etude du gène ret dans les néoplasies endocriniennes multiples de type 2 chez la population marocaine

laila bouguenouch (1), imane samri (1), khadija belhassan (1), hasna hamdaoui (2), karim ouldim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc

2. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** bouguenouch laila (lbouguenouch@yahoo.com)

Les néoplasies endocriniennes multiples de type 2 (NEM2) est une maladie héréditaire autosomique dominante dont l'expression et la pénétrance varient selon les familles et les individus atteints.

La NEM2 est en soi un modèle de tumorigenèse puisque c'est le seul cancer héréditaire connu lié à la mutation germinale dominante d'un proto-oncogène : le gène RET. Ces mutations entraînent une auto activation constitutive du domaine tyrosine Kinase et une transformation en activité oncogénique.

Les mutations associées au phénotype NEM2A siègent majoritairement dans l'exon 11, les mutations dans l'exon 10 sont retrouvées dans 15 à 20 % des cas.

Le but de notre travail est de rechercher les mutations du proto-oncogène RET chez des patients présentant une néoplasie endocrinienne multiple type 2A ainsi que la détermination des sujets à risque au sein de la famille afin d'entreprendre chez eux le dépistage précoce des diverses atteintes endocriniennes, en tout premier lieu, celle du carcinome médullaire de la thyroïde.

Nous avons procédé au séquençage des exons 10 et 11 du gène RET. Les études préliminaires n'ont pas montré de mutations chez 10 patients.

Le séquençage des autres échantillons est en cours.

**Mots-clés :** néoplasie endocrinienne multiple, gène RET, oncogénétique

## Oncogénétique

B132/#726

### Implication des gènes brca1 et brca2 dans le cancer du sein des familles du nord du maroc

laila bouguenouch (1), imane samri (1), khadija belhassan (1), hasna hamdaoui (2), el otmani ihsan (3), karim ouldim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc
2. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc
3. unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassane II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** bouguenouch laila (lbouguenouch@yahoo.com)

5 à 10% des cancers du sein sont des formes héréditaires transmises selon le mode autosomique dominant et sont dus à des mutations dans les gènes de prédisposition au cancer du sein et ou de l'ovaire BRCA1 ou BRCA2.

Le travail présent a pour objectif l'évaluation de l'importance que joue ces gènes dans la carcinogenèse du cancer du sein et ou de l'ovaire chez des patientes marocaines non apparentées.

La sélection des patientes s'est effectuée selon leurs histoires personnelles et familiales en retenant comme critères principaux l'âge au diagnostic, la présence d'autres tumeurs, la bilatéralité du cancer, l'atteinte d'un sujet de sexe masculin, la présence de cas de cancers du sein et ou de l'ovaire chez au moins un apparenté du premier degré ou du second degré.

Etant donné la grande taille du gène, la stratégie moléculaire adaptée consiste à explorer d'abord l'exon 11 par PCR séquençage des deux gènes puis les autres exons codants.

Les études préliminaires montrent l'absence de mutations sur l'exon 11 des gènes BRCA1 ET BRCA2 chez 22 patientes. Le séquençage des autres échantillons ainsi que l'exploration des autres exons sont en cours.

**Mots-clefs :** cancer du sein, gène BRCA1/BRCA2, conseil génétique

## Oncogénétique

B133/#739

### Fusion du gène RET: une nouvelle cible thérapeutique.

#### A propos de 2 cas de cancer pulmonaire non à petites cellules chez des patients caucasiens.

Valérie KOUBI PICK (1), Benjamin BESSE (3), David PLANCHARD (3), Zsofia BALOGH (2), Sébastien ROUX (2), Philippe VIELH (1), Nathalie AUGER (1), Ludovic LACROIX (1), Jean-Charles SORIA (4), Jean-Yves SCOAZEC (1),

1. Pathologie Moléculaire, Gustave roussy Cancer campus, Villejuif, France
2. Laboratoire d'Histocytopathologie, Gustave roussy Cancer campus, Villejuif, France
3. Oncologie Thoracique, Gustave roussy Cancer campus, Villejuif, France
4. SITEP, Gustave roussy Cancer campus, Villejuif, France

**Auteur correspondant :** KOUBI PICK Valérie (v.koubi-pick@gustaveroussy.fr)

Les cancers pulmonaires à petites cellules (NSCLC) représentent l'une des causes principales de mortalité dans le monde. Les importants progrès dans le domaine des techniques de génétique moléculaires ont permis de mettre en évidence des mutations telles que dans le gène EGFR, conduisant à des thérapies ciblées pour le patient. Depuis 2010, deux gènes de fusion ont été découverts : ALK et ROS1, permettant l'utilisation d'un traitement spécifique à l'aide d'ALK-inhibiteurs des tyrosine-kinases. Très récemment, Takeuchi et al. (Nat Med 2012) ont décrit de nouvelles protéines de fusion dérivant de modification du gène RET, un récepteur tyrosine kinase, localisé en 10q11.2, sensibles aux inhibiteurs de kinase. Les fusions de RET sont retrouvées dans des cohortes spécifiques de patients, assez bien définies sur le plan clinique, histologique et biologique.

De nos jours, la FISH reste la méthode de référence pour l'étude des fusions du gène RET ; c'est la seule technique à l'heure actuelle, capable de mettre en évidence tout type de remaniement de RET, quelque soit le partenaire impliqué.

Nous présentons deux nouveaux cas de patients caucasiens porteurs de NSCLC et d'anomalie du gène RET, nous permettant de souligner l'importance d'une coopération entre cliniciens, pathologistes, biologistes et cytogénéticiens. Nous décrivons également l'impact clinique d'une telle mise en évidence, en particulier grâce aux nouvelles thérapies ciblées pouvant améliorer le pronostic chez ces patients.

**Mots-clefs :** RET, Cancer pulmonaire non à petites cellules (NSCLC), thérapie ciblée



## Oncogénétique

B134/#749

### Cancers du sein et des ovaires : Problème du biais de recrutement dans la prédiction des risques en fonction des antécédents familiaux.

Tinhinan Belaribi (1), Flora Alarcon (2), Nadine Andrieu (3), Antoine de Pauw (4), Dominique Stoppa-Lyonnet (5), Gregory Nuel (6)

1. LPMA, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
2. MAP5 CNRS 8145, Université Paris Descartes, Paris, France
3. INSERM Unité 900, Institut Curie, Mines ParisTech, Paris, France
4. Service Génétique, Institut Curie, Paris, France
5. Service Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
6. LPMA CNRS 7599, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

**Auteur correspondant :** Belaribi Tinhinan (belaribi.nina@gmail.com)

En oncogénétique, l'estimation des risques de cancer, tel que le risque cumulé en fonction de l'âge, est d'une importance capitale. Il permet d'établir les seuils de décision, indispensables aux cliniciens pour définir les stratégies de prévention pouvant aller jusqu'à la mastectomie ou l'annexectomie pour les prédispositions aux cancers du sein et de l'ovaire. Ces prédispositions complexes ont des formes monogéniques dues à des mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2. A l'Institut Curie à Paris, on estime que 3% des femmes atteintes de cancer du sein sont porteuses d'une mutation BRCA1/2 et 10% des femmes atteintes d'un cancer de l'ovaire avant l'âge de 70 ans.

Le modèle BOADICEA (Antoniou et al., 2004) permet d'estimer les risques pour une patiente indemne d'être atteinte d'un cancer du sein ou de l'ovaire en fonction de son histoire familiale (HF). Cette estimation dépend de certains paramètres (fonction de pénétrance, fréquences alléliques, variance de l'effet familial). Bien que ce modèle soit utilisé dans de nombreuses consultations de génétique, il a été montré (de Pauw, 2011) qu'il a un faible pouvoir prédictif et qu'il n'est pas adapté à des patientes recrutées sur une histoire familiale car ses paramètres sont estimés à partir d'études de population. En effet, une mauvaise prise en compte du recrutement des familles provoque un biais non seulement lors de l'estimation des paramètres du modèle, mais également lors du calcul du risque prédictif. Dans le modèle BOADICEA, les pénétrances et les fréquences alléliques sont choisies dans la littérature, seule la variance de l'effet familial est estimée.

Nos premiers travaux en collaboration avec l'Institut Curie ont pour but d'étudier le biais introduit sur l'estimation de la variance et sur le calcul du risque, en fonction des différentes corrections possibles du biais de recrutement.

Les résultats montrent une surestimation du risque en l'absence de correction pour le recrutement et une sous-estimation avec la correction du modèle BOADICEA. Cette dernière étant basée sur un conditionnement de la vraisemblance uniquement basé sur le phénotype, elle ne correspond pas aux données familiales de l'Institut Curie dont le critère de recrutement peut dépendre aussi des génotypes. Nous proposons alors une correction de type Prospective (Alarcon, 2009) qui consiste à conditionner la vraisemblance par l'événement d'ascertainment via l'individu index. Les résultats de nos simulations montrent des estimations non biaisées aussi bien sur la variance de l'effet familial que sur le risque prédictif individuel. Cependant, cette méthode nécessite une très bonne connaissance des critères de recrutement.

Il est donc primordial de connaître ces critères le plus précisément possible et d'essayer de les modéliser afin d'avoir la meilleure correction possible du biais et donc le meilleur pouvoir prédictif.

**Mots-clés :** Cancer du sein et des ovaires, BRCA1, BRCA2, Prédiction des risques, histoire familiale, biais de recrutement

## Oncogénétique

B135/#758

### Cytogénétique classique et moléculaire des hémopathie malignes: expérience du chu hassan II

khadija belhassan (1), imane samri (1), laila bouguenouch (1), hasna hamdaoui (2), el otmani ihsan (3), hanane sayel (1), said trhanint (1), wafaa bono (4), karimouldim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc
2. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc
3. unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassane II, Fès, Maroc
4. Service de médecine interne, CHU Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** belhassan khadija (belhassan-khadija@hotmail.com)

Les hémopathies malignes sont développées à partir des cellules d'origine hématopoïétique. Ce sont des maladies rares qui ont bénéficié de grands progrès thérapeutiques.

Les classifications des hémopathies se sont succédé depuis le début des années 1970 pour aboutir à une classification internationale consensuelle publiée en 2000 sous l'égide de l'Organisation mondiale de la santé qui tient compte du tissu d'origine de la prolifération, lymphoïde ou myéloïde, puis des éléments cliniques, morphologiques ou histologiques, immunophénotypiques, génétiques et moléculaires pour définir chaque entité.

la cytogénétique classique permet de confirmer un diagnostic suspecté dans certains cas et de fournir des arguments pronostiques influençant la prise en charge thérapeutique.

Nous rapportons une série de 50 patients colligés entre janvier 2011 et avril 2013. 32 patients ont été adressés pour suspicion de leucémie myéloïde chronique, 10 pour syndrome myéloprolifératif, 6 pour Leucémie aigue et 2 pour myélome multiple. L'âge de nos patients varie entre 45 et 70 ans.

Un caryotype médullaire a été réalisé chez tous nos patients. La FISH à la recherche de la translocation (9;22) a été réalisée chez 15 patients dans le cadre du diagnostic et du suivi.

A travers ce travail on rapporte la première expérience marocaine dans le cadre du diagnostic cytogénétique classique et moléculaire des hémopathies malignes pour une meilleure prise en charge des patients.

**Mots-clés :** cytogénétiqueclassique/moléculaire, hémopathies malignes, caryotype/FISH

## Oncogénétique

B136/#783

### L'analyse du proto-oncogène RET chez une famille de Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 2A

Karima Sifi (1) Noredine Abadi (1) Kacem Lezzar (2), Khalida Boudaoud (2) Nassim Nouri (2), Karima Benmebarek (1), Chérifa Benlatreche (1)

1. Laboratoire de biochimie du CHU de Constantine, Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de Médecine, université 3 Mentouri de Constantine, Algérie.  
2. Service d'endocrinologie, CHU de Constantine, Faculté de médecine, université 3 Mentouri Constantine, Algérie.

**Auteur correspondant :** Sifi Karima (sifikarima@yahoo.fr)

#### Introduction

La néoplasie endocrinienne multiple de type 2 (NEM2) est une affection multiglandulaire héréditaire de transmission autosomique dominante dont la prévalence est estimée à 1/5000.

Il existe trois variants phénotypiques de la NEM2, qui ont pour constante la présence d'un cancer médullaire de la thyroïde (CMT) : la NEM2A (Néoplasie Endocrinienne Multiple de Type IIA), la NEM2B, le CMT isolé familial (CMTF).

Les mutations germinales du proto-oncogène RET sont bien connues pour être la cause génétique du CMT des NEM2. Elles peuvent être identifiées par un criblage génétique.

Le CMT familiale représente l'exemple de cancer bénéficiant du dépistage génétique. L'efficacité de ce dépistage justifie d'ailleurs qu'il soit préconisé chez l'enfant et l'adulte ou un traitement préventif sera possible.

Objectif du travail :

Rechercher des mutations ponctuelles dans le proto-oncogène RET chez un cas index NEM2A et chez ses apparentés du 1er degré.

Patients et méthodes

Notre travail a été réalisé au laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de Médecine de l'université de Constantine, et au laboratoire de Biochimie et service d'endocrinologie du CHU de Constantine. Il a porté sur une famille de NEM 2A dont un cas index présentant un CMT et un phéochromocytome, et 13 apparentés du 1er degré.

Après extraction d'ADN à partir des leucocytes de sang périphériques, la recherche de mutations dans le proto-oncogène RET a été réalisée chez nos patients par un séquençage directe des exons : 8,9, 10, 11,13, 14, 15, 16.

Résultats

Nous avons caractérisé la mutation germinale C634Y de l'exon 11 du proto-oncogène RET chez le cas index NEM2A et chez 7 de ses 13 apparentés du 1er degré. L'haplotype G691S/S904S de RET à l'état homozygote a été retrouvé chez les apparentés ayant présenté la mutation.

Discussion

Dans différentes populations, les mutations germinales du codon 634 sont plus fréquentes dans les NEM2A. De plus le risques de phéochromocytome et/ou d'hyperparathyroïdie sont clairement associés à la présence de la mutation du codon 634 ce qui concorde avec nos résultats.

L'haplotype G691S/S904S de RET à l'état homozygote chez les apparentés suggère que celui ci aurait un effet modificateur sur l'âge de début du CMT des NEM2A.

Conclusion

Ce travail a contribué à la mise en place du dépistage génétique des NEM 2 et du CMT à Constantine.

Tous nos apparentés ayant présenté une mutation ont pu bénéficier de thyroïdectomies prophylactiques.

**Mots-clefs :** NEM2A, CMT-PHEO, RET proto-oncogène

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C001/#14

### Genetic counselling and psychological support difficulties in adults having genital ambiguity: Two late diagnosed cases from Tunisia

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Tarek Rebai (1)

1. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Abdelmoula Bouayed Nouha (nouha\_abdelmoulabouayed@yahoo.fr)

Ambiguous genitalia are usually diagnosed at birth or shortly after. In females, congenital adrenal hyperplasia is the most common condition leading to inappropriate virilization. In males, defects in testosterone production, metabolism, or peripheral action can lead to ambiguous genitalia. Later presentations of ambiguous genitalia often include previously unrecognized genital ambiguity such inguinal hernia in a girl.

Here, we report two cases of late diagnosed genital ambiguity seen at our genetic counselling for cytogenetics assessment. The first was a 17 year-old female who developed at puberty two years ago, masculine features with symptoms of androgen excess (growth of phallus, hirsutism and beard) associated to underdeveloped breasts, amenorrhea, reduced stature and cutaneous hyperpigmentation. The second was a 25 year-old female who was more interested in male activities and had a carrier of basketball player. She was phenotypically female but with amenorrhea, underdeveloped breasts and abnormal bilateral inguinal masses. The external genitalia showed a phallus length of 3.5 cm with perineoscrotal hypospadias.

At the cytogenetic analysis, the first female had a 46,XX formula and the second, a 46,XY formula. We confirm diagnosis of 21-hydroxylase deficiency for the first patient by biochemical methods and of complete androgen insensitivity for the second by molecular techniques.

At psychological level, keeping their condition secret leads them to social and familial isolation and this secrecy seems to be responsible of serious emotional problems.

We will discuss the interest of psychological support of adults having genital ambiguity as well as others disorders of sex development kept in secrecy.

**Mots-clefs :** Genital ambiguity, genetic counselling, psychological support

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C002/#27

### Analyse du raisonnement analogique dans la trisomie 21

Gérald BUSSY (1), Bénédicte DE FREMINVILLE (2), Marie DUCROCQ (1), Renaud TOURAINE (3)

1. génétique, CHU Nord, Saint Etienne, France
2. Génétique, CHU NOrd, Saint Etienne, France
3. génétique, CHU nord, Saint Etienne, France

**Auteur correspondant** : BUSSY Gérald (gerald.bussy@chu-st-etienne.fr)

les personnes porteuses de Trisomie 21 présentent d'importantes difficultés de raisonnement. Plusieurs études ont démontré que contrairement à d'autres causes de déficiences intellectuelles, les performances à des tests de raisonnement analogique telles que les Matrices Progressives de Raven Couleur étaient qualitativement différentes de celles d'enfants tout-venants. Cependant, ces distinctions ont été établies sur la base d'évaluation faite à l'aide de la forme cahier des PM de Raven, alors que la version encastrable est plus appropriée pour les personnes déficientes intellectuelles.

Nous avons donc évalué qualitativement les performances au test des PM de Raven Couleur d'adolescents et jeunes adultes porteuses de Trisomie 21. Pour cela nous avons comparé leurs types d'erreurs et leurs types de problèmes correctement résolus à ceux d'enfants et adolescents déficients non porteuses de Tr21 et à ceux d'enfants non déficients. L'appariement des groupes s'est fait sur la base du score total obtenu aux PM de Raven Couleur.

Les résultats confirment les données antérieures lors de la passation de la forme cahier. Par contre, les performances se « normalisent » avec la forme encastrable.

En conclusion, la forme encastrable des PM de Raven Couleur semble plus appropriée à l'évaluation des capacités de raisonnement analogique des personnes porteuses de Trisomie21. De plus, une analyse des types d'erreurs et des types de problèmes résolus semble indispensable en complément du score total.

**Mots-clefs** : Trisomie21, Raisonnement, erreurs

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C003/#28

### Intégration et insertion professionnelle des conseillers en génétique en France

Christophe Cordier (1), Nicolas Taris (2), Antoine De Pauw (3), Hagay Sobol (4), Nicole Philip (5), Marie-Antoinette Voelckel (5)

1. Service d'onco-hématologie, Hôpital de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de génétique oncologique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
3. Service de génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France
4. Service de génétique oncologique, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
5. Service de génétique médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant** : Cordier Christophe (cordierlabogen@gmail.com)

Huit ans après la création du Master Professionnel Pathologie Humaine spécialité « conseil en génétique et médecine prédictive », 122 diplômés exercent leur activité. 77 % occupent un poste de conseiller en génétique (n=94), 21 % sont engagés dans une autre voie professionnelle, et 2 % restent sans poste. Alors que la profession est encadrée par une loi, il n'existe à ce jour aucune information officielle concernant l'emploi ou la rémunération. Ainsi, le statut et l'activité des conseillers en génétique (CG) sont très différents d'un établissement à l'autre.

Nous proposons d'évaluer le regard porté par les professionnels de la génétique sur cette nouvelle collaboration. Quelle place occupe le CG dans les équipes pluridisciplinaires de génétique humaine ? Quelles sont ses tâches et les responsabilités qui lui sont confiées ? Quelles compétences sont attendues pour son exercice ? L'objectif global étant d'apprécier l'intégration et l'insertion professionnelle du CG.

Notre étude nationale sur la formation et sur la profession des CG a été réalisée auprès de 422 professionnels de la génétique incluant médecins généticiens et professionnels de santé issus de centres de références et de compétences. Un questionnaire électronique élaboré par les responsables du Master et 4 CG, et comprenant 31 questions a été adressé par courrier électronique via une liste de diffusion issue des différents groupes de travail en génétique. Les questions concernent le participant (domaine d'exercice), le rôle du CG, le type de consultation pouvant lui être confié ainsi que les compétences attendues pour exercer cette profession. 126 professionnels ont répondu à l'étude (30%) : 72 sont spécialisés en génétique (57 %), 19 en biologie (14 %) et 12 en oncologie (10 %). 104 travaillent en collaboration avec un CG (83 %). Concernant ces-derniers, 58 % interviennent en tant que premier contact avec le patient, 76 % réalisent l'arbre généalogique, 68 % peuvent expliquer au patient le principe des tests génétiques. 44 % sont amenés à proposer des tests génétiques dans le cadre de consultations de conseil génétique alors que 18 % seulement dans le cadre de consultations à visée diagnostique. La reconnaissance de « ses propres limites » (85 %) et le travail en équipe (79 %) sont cités majoritairement lorsqu'il s'agit d'évoquer les compétences requises pour le CG. Par ailleurs, 26 % des participants estiment que le CG doit également savoir aider le patient dans la prise de décision. Enfin, les médecins sont prêts à laisser consulter un CG de manière autonome dans 79 % des cas.

Notre étude montre que la profession semble maintenant clairement reconnue par les médecins collaborant avec un conseiller en génétique. Nous décrivons en détail la fonction et les tâches autorisées de ces professionnels de santé intégrés dans les établissements de santé et précisons les commentaires critiques sur la profession recueillis par le biais de cette étude.

**Mots-clefs** : conseil génétique, éducation, profession

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C004/#54

### Stages pratiques de biologie pour les membres d'associations de maladies génétiques rares : une action unique en Europe, dispensée par Tous Chercheurs et la Fédération des écoles de l'ADN - Mieux comprendre pour mieux se battre

-

Marion Mathieu (1), Claire Rochette (2), Christian Siatka (3), Laurent Fillion (4)

1. Tous Chercheurs, Marseille, France
2. Ecole de l'ADN Evry-Généthon, Evry, France
3. Ecole de l'ADN de Nîmes, Nîmes, France
4. Ecole de l'ADN de Poitou-Charentes, Poitiers, Marseille

**Auteur correspondant :** MATHIEU Marion (mathieu@touschercheurs.fr)

Nous avons la conviction qu'une personne combat mieux sa maladie lorsqu'elle en comprend les mécanismes et est au courant des avancées de la recherche dans le domaine. Ainsi, l'association Tous Chercheurs a initié, en 2004 à Marseille, un projet novateur pour les associations de malades souffrant de maladies chroniques, en développant des stages pratiques de biologie spécifiquement adaptés à ce public. Ils durent trois jours et permettent aux participants de redécouvrir leur pathologie en se mettant dans la peau d'un chercheur. Grâce à ces stages, les malades et leurs familles peuvent acquérir des bases de biologie et comprendre concrètement les spécificités de la recherche sur leur maladie. Ces stages permettent aussi de favoriser le dialogue entre associations de malades, chercheurs et médecins, indispensable aux avancées de la recherche. Pour permettre une meilleure couverture nationale et une démultiplication de l'offre, un essaimage a été réalisé en 2008 vers la Fédération francophone des écoles de l'ADN : les stages sont maintenant réalisés dans 5 villes (Angers, Evry-Généthon, Marseille, Nîmes et Poitiers). De mai 2004 à novembre 2013, nous aurons organisé 90 stages et accueilli plus de 900 stagiaires. Cela témoigne du vif intérêt des malades pour ce type d'action.

**Mots-clefs :** stage pratique de biologie, associations de malades, dans la peau d'un chercheur

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C005/#100

### Dysmorphies faciales dans les maladies génétiques accompagnées d'une déficience intellectuelle : de l'aide au diagnostic au risque du préjudice

Claire Enea-Drapeau (1), Pascal Huguet (2), Michèle Carlier (1)

1. Laboratoire de Psychologie Cognitive, UMR 7290 Aix Marseille Université et CNRS, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Laboratoire de Psychologie Cognitive, UMR 7290 Aix Marseille Université et CNRS, CNRS, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Carlier Michèle (michele.carlier@univ-amu.fr)

Lorsqu'une personne présente une déficience intellectuelle, la dysmorphie faciale est un critère retenu par De Vries et al. (2001) pour l'orientation des patients vers un service de génétique moléculaire. Pour des maladies rares, la présence de certains traits faciaux suffit à suggérer un diagnostic. C'est le cas pour les mutations dans le gène Oligophrenin 1 (Chabrol et al., 2005). Les cas les plus connus parmi les microdélétions sont la délétion 7q11.23 (syndrome de Williams Beuren) et 22q11 (syndrome de DiGeorge ou syndrome vélo-cardio-facial). Parmi les mutations, il faut citer l'X fragile (FXS). Une simple recherche dans la banque de données Orphanet permet de constater que, pour chacune de ces anomalies génétiques, il existe des signes physiques de dysmorphies faciales, plus ou moins discrets mais suffisamment caractéristiques de l'anomalie pour que le lecteur en soit avisé. L'exemple le plus emblématique est celui de la trisomie 21 (Syndrome de Down).

Pour le patient, le bénéfice d'être plus facilement diagnostiqué grâce à des signes physiques aisément repérables peut-il être contrebalancé par un risque de stigmatisation ? De nombreux travaux issus de la psychologie sociale montrent que les caractéristiques faciales conduisent souvent à des inférences et des jugements stéréotypés qui, par définition, ne tiennent pas compte des différences interindividuelles. Or, si l'on sait qu'il existe, en moyenne, des phénotypes comportementaux différents selon les anomalies génétiques, la variation intra-groupe reste la règle.

Le cas de la t21 est emblématique pour répondre à notre question dans la mesure où : 1) cette trisomie est bien connue du public, 2) le stéréotype auquel la t21 donne matière dans la population générale mais aussi auprès de certains professionnels de santé est plutôt positif au niveau explicite (niveau déclaratif) mais nettement négatif au niveau implicite (niveau des associations en mémoire sémantique ; cf. Enea-Drapeau, Carlier, Huguet, 2012). À partir d'un échantillon de 44 photos de jeunes porteurs de t21, nous montrons que plus les personnes photographiées sont jugées porteuses de cette anomalie chromosomique, plus elles sont jugées « retardées » ou « pas intelligentes », alors qu'il n'existe aucun lien entre les caractéristiques physiques de la personne photographiée et son niveau cognitif (verbal et non verbal). On peut donc conclure que l'évocation d'un diagnostic à partir de traits faciaux est bien porteuse d'un certain risque de stigmatisation.

Chabrol, B., Girard, N., N'Guyen, K., Gérard, A., Carlier, M., Villard, L., & Philip, N. (2005). *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 138(4), 314-317.

De Vries, B. B. A., White, S. M., Knight, S. J. L., Regan, R., Homfray, T., Young, I. D., ... Winter, R. M. (2001). *J. med. genet.*, 38(3), 145-150

Enea-Drapeau, C., Carlier, M., & Huguet, P. (2012). *PLoS ONE*, 7(4), e34369. doi:10.1371/journal.pone.0034369#ack  
Orphanet (www.orphanet.net)

**Mots-clefs :** dysmorphies faciales, trisomie 21, préjudice



## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C006/#115

### Caractérisation génétique de la Dysplasie Epithéliale Intestinale

Julie Salomon (1), Olivier Goulet (1), Danielle Canioni (2), Julie Lemale (3), Aurore Coulomb (4), Evelyne Marinier (5), Olivier Roche (6), Christine Bodemer (7), Jean-Paul Bonnefont (8), Stanislas Lyonnet (8), Asma Smahi (8), Arnold Munnich (8)

1. Gastroentérologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Anatomopathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. Gastroentérologie Pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, Institut de Cardiometabolisme et Nutrition, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
4. Anatomopathologie, Hôpital Armand-Trousseau, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
5. Gastropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Université Paris-Diderot-Sorbonne Paris-Cité, UMR843, Paris, France
6. Ophtalmologie, Hôpital Necker- Enfants Malades, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Paris, France
7. Dermatologie Pédiatrique, Hôpital Necker- Enfants Malades, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Paris, France
8. Service de Génétique, INSERM U781, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France

**Auteur correspondant :** SALOMON Julie (juliecsalomon@gmail.com)

La Dysplasie Epithéliale Intestinale (DEI) est une entéropathie rare et sévère récemment associée à des mutations dans le gène EpCAM. Nous démontrons dans ce travail que le gène SPINT2, précédemment impliqué dans la Diarrhée Sodée Congénitale (DSC), est un second gène associé à la DEI et rapportons des données moléculaires et immunohistochimiques chez 56 patients porteurs de DEI. Les critères d'inclusion étaient la coexistence d'une diarrhée néonatale et d'une insuffisance intestinale avec les anomalies histologiques typiques définissant la DEI. Nous avons caractérisé cliniquement l'ensemble des malades de notre cohorte et avons séquencé les régions codantes des gènes EpCAM et SPINT2. Par ailleurs nous avons corrélé les résultats génétiques à des études d'expression des protéines EpCAM et SPINT2 en réalisant des immunomarquages sur des coupes intestinales. Des mutations dans le gène EpCAM ont été identifiées chez 39 patients (69%) qui présentaient principalement des troubles digestifs isolés. Ces mutations, le plus souvent tronquantes résultaient en l'absence totale du marquage EpCAM sur les tissus intestinaux. Les rares mutations faux-sens entraînaient une expression réduite ou irrégulière de la protéine EpCAM. Douze autres patients (21%) portaient des mutations dans le gène SPINT2. Ces patients sont caractérisés phénotypiquement par l'association systématique de la DEI avec une kératite ( $p < 10^{-4}$ ) et, pour la moitié d'entre eux, avec une atrophie des choanes ( $p < 10^{-4}$ ). La dépendance à la nutrition parentérale était comparable chez les patients mutés dans les gènes EpCAM ou SPINT2. Cependant, la mutation fréquente du gène EpCAM c.556 -14A>G était significativement associée à un meilleur pronostic ( $p = 0,043$ ). Enfin, cinq patients (9%) avec des symptômes digestifs isolés n'avaient pas de mutation détectable dans les gènes EpCAM et SPINT2. Deux gènes candidats, ELF3 et Claudin7, ont été exclus dans cette population. Notre étude nous a permis de séparer les patients DEI en au moins trois groupes génétiques, chacun avec des phénotypes spécifiques. Nos résultats devraient contribuer à améliorer le diagnostic des DEI et guider les stratégies thérapeutiques. Par ailleurs, l'approche génétique soulève la question de la distinction entre la DEI et la CSD dans leur forme syndromique.

**Mots-clés :** Maladie rare, Entéropathie congénitale, insuffisance intestinale

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C007/#144

### DÉCRET DU 20 JUIN 2013 RELATIF A LA PROCÉDURE D'INFORMATION AUX APPARENTES

#### Appliquer la loi sans traumatiser la parentèle : analyse psychologique et propositions pratiques

- Khadija LAHLOU-LAFORET (1), Juliette ALBUSSON (2), Jean-Michaël MAZZELLA (3), Diane MOLIÈRE (3), Pierre LAURENT-PUIG (4), Xavier JEUNEMAITRE (5), Silla CONSOLI (6), Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO (5)
1. U.F. de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France
  2. Service de Génétique ; Université Paris Descartes, Faculté de médecine, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France
  3. Service de Génétique, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France
  4. Service de Génétique ; Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France
  5. Service de Génétique ; Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, INSERM, UMR970, Centre de recherche cardiovasculaire de l'HEGP, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France
  6. U.F. de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences ; Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France

**Auteur correspondant :** LAHLOU-LAFORET Khadija (khadija.lahlou-laforet@egp.aphp.fr)

L'arrêté du 20 juin 2013 (décret n°2013-S27) modifie notablement la pratique en matière de transmission de l'information à la parentèle, en cas de refus d'information de la part du cas index à ses apparentés. L'analyse de ces cas de refus montre que la plupart d'entre eux sont évolutifs et solubles grâce à une prise en charge pluridisciplinaire attentive à favoriser la transmission de l'information. Les causes de refus relèvent essentiellement d'un conflit familial, de la culpabilité d'inaugurer une maladie familiale, de la volonté de cacher sa propre maladie, et plus rarement d'un trouble de la personnalité. La transmission d'une information par le généticien, avec l'autorisation du cas index, ne doit pas constituer une solution de facilité, alors que les différentes possibilités de compréhension et de résolution du problème n'auraient pas été recherchées. Il paraît essentiel de limiter au maximum ce type d'information par courrier, car il est à craindre que la réception d'une lettre recommandée avec AR, informant d'un risque génétique, de la part d'un mystérieux parent anonyme, ne s'accompagne au minimum d'une réaction d'angoisse, et au maximum d'un risque de passage à l'acte impulsif chez une personne dont le contexte socio-psychologique est inconnu. La détresse de l'apparenté ainsi prévenu durera le temps nécessaire à l'organisation d'une consultation génétique ad hoc, et ne constitue pas un terrain favorable à l'organisation d'un test présymptomatique dans un climat apaisé. Nous proposons d'envoyer dans un premier temps la lettre d'information à la parentèle par courrier simple avec une attestation de réception de courrier, et de ne l'envoyer en recommandé qu'en 2ème intention. Nous proposons aussi le modèle de lettre suivant, susceptible d'être moins traumatisant que le modèle initialement proposé dans l'arrêté :  
« Madame, Monsieur,  
Ce courrier a pour but de vous apporter une information médicale qui est susceptible de vous intéresser.  
En effet, un membre de votre famille s'est révélé porteur d'une anomalie génétique éventuellement héréditaire. Il lui a été difficile de vous informer directement, mais il a accepté de nous donner votre adresse afin que vous puissiez bénéficier de cette information.  
Je vous invite à consulter, sans urgence, un médecin généticien (ci-joint les coordonnées des consultations de génétique proches de votre domicile). Ce médecin pourra prendre contact avec moi en se référant à ce courrier, et vous proposer éventuellement un test génétique.

Selon les résultats de ce test, des examens pourront vous être conseillés, à titre préventif.

Pourriez-vous nous informer, en nous renvoyant la page 2 signée, que vous avez bien reçu ce courrier ? Sans ce renvoi, la loi nous contraint de vous adresser une lettre recommandée, procédure que nous souhaitons éviter dans la mesure du possible.

Je vous prie d'agréer, Madame, Monsieur, l'expression de ma considération distinguée ».

**Mots-clefs** : décret du 20 juin 2013, proposition d'un modèle de lettre, analyse psychologique du refus de transmission de l'information aux apparentés

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C008/#159

### Détection de la délétion du gène XPC en utilisant l'analyse par Sizing en Fragment.

Salima BENSENOUCI (1), Lotfi LOUHIBI (2), Khadidja MAHMOUDI (3), Cécile GED (4), Hubert DE VERNEUIL (5), Nadhira SAIDI-MEHTAR (1)

1. laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF, Oran, Algérie
2. laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie d'Oran mohamed BOUDIAF, Oran, Algérie
3. Service d'ophtalmologie, Hôpital pédiatrique d'Oran Canastel, Oran, Algérie
4. INSERM U1035, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
5. DE VERNEUIL, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

**Auteur correspondant** : BENSENOUCI Salima (salima.ben13@gmail.com)

Xeroderma pigmentosum (XP) est une maladie autosomique récessive rare caractérisée par une incapacité à réparer les lésions de l'ADN causées par les rayons UV. L'XP est relativement fréquent dans les régions à fort taux de consanguinité comme au Moyen-Orient et au Maghreb. L'hétérogénéité clinique de la maladie est liée à l'existence de 7 groupes de complémentation XP classiques (XP-A à XP-G) codant pour des protéines impliquées dans la voie de réparation par excision-résynthèse des nucléotides de l'ADN (NER). Le groupe de complémentation (XPC) est le gène le plus fréquemment muté en Afrique du Nord avec une mutation qui provoque un décalage de cadre de lecture (c.1643\_1644delTG, p.Val548Ala fsX23) responsable d'une proportion importante des cas XP. Notre étude consiste à détecter cette délétion dans un échantillon de la population de l'Ouest algérien. D'une collection de 20 familles XP non apparentées, nous avons obtenu 58 échantillons d'ADN (19 cas index, 31 parents, 8 frères et sœurs atteints de XP) pour valider une analyse de routine qui inclut une amplification spécifique d'une courte région entourant la délétion 2 pb en utilisant une amorce fluorescente et un sizing en fragment (GeneScan size) sur un gel de séquençage.

Un résultat sans ambiguïté a été obtenu dans tous les échantillons testés et trois génotypes possibles ont été identifiées (type sauvage, hétérozygote et homozygote pour la délétion). Parmi les 19 cas index, 17 étaient homozygotes pour la délétion de 2pb, leurs frères et sœurs ont été contrôlés pour la même mutation et nous a constaté qu'ils étaient aussi homozygotes pour la délétion de 2pb. Le bi-allélisme a été confirmé par l'analyse des deux parents dans la plupart des cas.

Enfin, l'utilisation d'un sizing de fragment est la méthode la plus simple pour analyser de délétion de 2pb pour les échantillons d'ADN provenant de pays où la mutation du gène XPC (c.1643\_1644delTG) est la prévalente

**Mots-clefs** : xeroderma pigmentosum, sizing en fragment, ouest algérien

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C009/#266

### Evaluation du dépistage prénatal de la Trisomie 21 par le test combiné du premier trimestre dans le Languedoc-Roussillon.

Irène FRIES (1), Emmanuelle HAQUET (1), Pierre BOULOT (2), Anaïg FLANDRIN (2), Geneviève LEFORT (3), Pierre SARDA (1), David GENEVIEVE (1)

1. Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant** : FRIES Irène (ifries@me.com)

En 2007, la Haute Autorité de Santé préconise de nouvelles stratégies de dépistage prénatal de la trisomie 21 selon les nouvelles connaissances scientifiques. Elles suggèrent qu'une analyse combinée des 3 marqueurs de ce dépistage : âge maternel, mesure de la clarté nucale, marqueurs sériques maternels (PAPP-A et bêta-hCG) réduit le nombre de faux positifs donc le taux de mort fœtale in utero lié au prélèvement fœtal, tout en gardant la même sensibilité.

Après l'arrêt du 23 juin 2009, fixant les règles de bonne pratique en matière de dépistage prénatal, nous avons réalisé, dans le Languedoc-Roussillon (LR), une étude prospective, descriptive et analytique, du dépistage combiné du premier trimestre.

Selon l'INSEE, 60 008 naissances ont eu lieu dans le LR entre le 4 janvier 2010 et le 30 décembre 2011.

Toutes les données, pour la même période, proviennent du réseau de périnatalité « Naître en LR », des CPDPN du LR (Montpellier et Nîmes), des laboratoires de cytogénétique régionaux et ont pu être obtenues à partir de l'application web sécurisée de collaboration interprofessionnelle BioNuQual.

La participation au test combiné du premier trimestre est de 43% ; soit 29 815 patientes incluses, chez lesquelles la prévalence de la trisomie 21 à 12 semaines d'aménorrhée est de 1/384. La sensibilité est de 85,9% [IC 95% : 75,8 - 92,4], avec 3,1% de faux positifs [IC 95% 3,2-3,1]. La valeur prédictive positive de la population à risque est de 6,7%.

L'échographie morphologique du deuxième trimestre améliore la sensibilité du dépistage. Cependant, l'observation de refus de prélèvement fœtal à visée diagnostique des patientes à risque font craindre une mauvaise information transmise par les professionnels du suivi de grossesse.

Probablement des études comparables sont à mener au niveau national. Elles permettront d'associer les tests génétiques fœtaux de la trisomie 21 sur sang maternel aux programmes actuels.

Cette étude montre une bonne « mise en place » du test combiné précoce de dépistage de la trisomie 21 dans la région du LR depuis la parution de l'arrêt du 23 juin 2009. L'information donnée aux patientes semble cependant devoir être améliorée.

**Mots-clefs** : Trisomie 21, Dépistage prénatal, Test combiné du premier trimestre

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C010/#268

### Particularités du test présymptomatique en oncogénétique : l'expérience d'une consultation

Christilla Boucher (1), Marylise Babonneau (1), Hélène Delhomelle (2), Mathilde Warcoïn (1), Anne Fajac (3), Florent Soubrier (1), Marcella Gargiulo (4), Delphine Héron (1), Chrystelle Colas (1)

1. Département de génétique, GH Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Consultation d'oncogénétique, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
3. Consultation d'oncogénétique, Hôpital Tenon, APHP, Paris, France
4. Institut de Myologie, GH Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France

**Auteur correspondant :** Colas Chrystelle (chrystelle1@yahoo.com)

D'une façon générale, la réalisation des tests présymptomatiques doit être faite dans le cadre d'une équipe pluridisciplinaire ayant un protocole de prise en charge. Ce protocole, par la temporalité qu'il impose permet, entre autres, de donner au sujet la possibilité de choisir ne pas connaître son statut génétique. Notre consultation d'oncogénétique est répartie sur trois sites avec, sur les 8 dernières années, plus de 8000 consultations. Les principales prédispositions prises en charge sont celles aux cancers du sein et de l'ovaire et aux cancers digestifs avec plus de 1000 patients vus pour un test présymptomatique. Au sein de la consultation de génétique de la Pitié Salpêtrière, une interaction forte existe avec les équipes qui assurent des tests présymptomatiques pour d'autres pathologies. Les réflexions suivantes sont issues de ces expériences partagées. En oncogénétique, la problématique autour des tests présymptomatiques est particulière et diffère considérablement de celle décrite dans des pathologies pour lesquelles il n'existe pas de mesures préventives. En effet, à l'issue du test, il existe une prise en charge permettant de dépister les cancers précocement et même de réduire le risque de les voir apparaître. Il y a donc clairement un bénéfice médical à faire le test. Pour les personnes ne souhaitant pas connaître leur statut génétique, cette prise en charge leur est d'ailleurs conseillée par défaut. Dès lors, la question n'est donc pas uniquement de faire ou de ne pas faire le test mais plutôt quand et dans quelles conditions le faire. Le protocole de test a alors une vocation d'accompagnement, de préparation à l'annonce du résultat quel qu'il soit et à ses conséquences notamment en termes de prévention. En cas de résultat défavorable, on remplace une situation d'incertitude (être porteur ou non) par une autre (haut risque de développer un cancer à un âge imprévisible) car la pénétrance est souvent incomplète et l'expressivité variable. L'accompagnement avant et après le test permet d'anticiper cela et vise à favoriser l'adhésion au dépistage et à aider aux décisions médicales qui reviennent en dernier lieu au patient lui-même. En cas de résultat favorable : il est possible de lever la surveillance de type haut risque pour revenir à une surveillance de type population générale ; mais « guérir du risque » n'est pas toujours simple d'autant que le risque de cancer de la population générale persiste. Enfin, concernant les cas index, déjà atteints d'un cancer, le test oncogénétique reste un test présymptomatique car il informe d'un sur-risque de développer à nouveau un cancer, éventuellement sur d'autres organes. De plus ces personnes doivent assumer d'informer leurs apparentés, afin que ceux ci puissent être pris en charge de manière adaptée. Nous ferons état de la spécificité de la procédure du test présymptomatique en oncogénétique et nous illustrerons la complexité de l'accompagnement psychologique par deux cas cliniques.

**Mots-clefs :** test présymptomatique, oncogénétique, accompagnement psychologique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C011/#278

### Décret n°2013-527 du 20 juin 2013 relatif à la procédure d'information aux apparentés : Création d'un groupe de réflexion pour sa mise en place au sein des consultations de génétique de l'hôpital Européen Georges Pompidou

Jean-Michaël MAZZELLA (1), Juliette ALBUSSON (2), Diane MOLIÈRE (3), Xavier JEUNEMAITRE (4), Pierre LAURENT-PUIG (3), Khadija LAHLOU-LAFORET (1), Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO (1)

1. Consultation pluridisciplinaire d'oncogénétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
2. Consultation de génétique cardiovasculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
3. Consultation d'oncogénétique gynécologique et digestive, Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
4. Consultation de génétique cardiovasculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

**Auteur correspondant :** MAZZELLA Jean-Michaël (jean-michael.mazzella@egp.aphp.fr)

Depuis 2001, les lois de bioéthique encadrent la génétique médicale et le conseil génétique. L'information de la parentèle de patients atteints de maladie génétique a été abordée dans la loi de 2008 mais le décret d'application n'a été publié que le 20 juin 2013. Il stipule que la personne porteuse d'une anomalie génétique grave doit être prévenue de son obligation d'informer les membres de sa famille potentiellement concernés. Elle peut informer ses apparentés ou consentir à ce que le généticien transmette l'information à sa parentèle. La personne ne souhaitant pas que ses apparentés soient informés engage sa responsabilité civile. Le caractère directif de ce texte génère de nouvelles procédures pour les consultations de génétique.

A l'Hôpital Européen Georges Pompidou (HEGP), la consultation prend en charge des patients porteurs de pathologies autosomiques dominantes (cardiovasculaires, tumorales, rénales) pouvant bénéficier de soins et de prévention mais engageant parfois le pronostic vital. Chaque patient est reçu 3 fois en consultation (information et proposition du test, 1er rendu, rendu définitif).

Le service de génétique de l'HEGP a constitué un groupe de réflexion de 4 généticiens, 1 psychiatre et 2 conseillers en génétique autour de l'application de ce texte pour garantir une prise en charge optimale des patients et de leur famille.

Après lecture approfondie du texte, actualisation du consentement éclairé, création d'un protocole local d'information à la parentèle et des formulaires ad-hoc, nous nous sommes focalisés sur la temporalité de l'information à la parentèle. Le texte précise que le choix du mode d'information doit être défini lors de la consultation initiale de prescription du test, excluant une appropriation préalable des connaissances sur sa maladie par le patient. Pour ces affections graves, un temps dédié à l'entretien avec le patient en dehors de toute obligation réglementaire, est fondamental. L'application en l'état de cet élément du décret comportant un risque traumatique pour la famille, nous avons choisi d'adapter le déroulement de la procédure. Les 2 premières consultations pourraient être centrées sur le patient, les notions d'information à la parentèle y étant introduites progressivement. La 3e consultation de rendu définitif pourrait être celle du choix écrit des modalités d'information aux apparentés.

Enfin, nous avons réfléchi une alternative à la lettre recommandée type fixée par arrêté, afin de minimiser le risque traumatique pour la parentèle. En ce sens un modèle de lettre –envoyée en courrier simple dans un 1er temps– a été adopté par le groupe de réflexion et sera utilisé dans les rares cas où le patient souhaitera que le généticien informe ses apparentés.

Nous souhaitons faire un bilan des premiers mois de fonctionnement de cette nouvelle procédure au sein de la consultation de génétique de

l'HEGP puis confronter ce bilan aux expériences des différents services de génétique.

**Mots-clefs** : Procédure de transmission d'information à la parentèle, Groupe de réflexion, Prise en charge optimale des patients par un protocole en 3 étapes

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C012/#289

### Les surprises de la génétique : histoire d'une contraction du nombre de triplets du gène FMR1.

Denise MOLINA GOMES (1), Etienne MORNET (2), Cécile OHEIX (1), Joelle ROUME (1), François VIALARD (1)

1. Unités de Génétique médicale et Cytogénétique, CHI Poissy/Saint Germain en Laye, POISSY, France  
2. Unité de génétique constitutionnelle, Centre hospitalier de Versailles, LE CHESNAY, France

**Auteur correspondant** : OHEIX Cécile (cecile.oheix.cg@gmail.com)

**Introduction** : La contraction du nombre de répétitions CGG au locus FMR1 dans le cas d'une transmission maternelle est un phénomène très rare. Nous rapportons ici un cas.

**Cas clinique** : Nous présentons le parcours atypique et particulier d'une patiente, âgée de 33 ans, adressée en consultation de génétique en vue d'un don d'ovocytes dans le contexte d'une insuffisance ovarienne précoce (IOP), confirmée par le bilan hormonal : FSH 61.4mUI/ml et AMH 0.14mg/ml.

**Démarche clinique** :

- Enquête familiale : non informative.
- Bilan d'IOP : mise en évidence d'une prémutation X Fragile à 90 CGG.
- Annonce du résultat et conseil génétique : nécessité d'informer la famille et recevabilité du recours à un don d'ovocytes.
- Découverte de la grossesse naturelle : suivi échographique hebdomadaire dès 6SA en raison du risque accru de fausses couches de par l'IOP, et conseil génétique lors duquel le couple a fait le choix de réaliser un diagnostic prénatal (DPN) quel que soit le sexe fœtal.
- Réalisation du DPN par biopsie de trophoblaste au terme de 12SA+5j : transmission, chez un garçon, de l'allèle pathogène avec une contraction du nombre de répétitions : 51 CGG.
- Conseil génétique d'annonce du résultat du DPN : explication de la contraction de l'amplification et de la nécessité de la réaliser une amniocentèse afin de confirmer la contraction et de s'assurer de l'absence de mosaïque en raison de l'instabilité de l'allèle.
- Prélèvement de liquide amniotique à 18SA : confirmation de la contraction et de l'absence de mosaïque identifiable.

**Discussion** : Ce fœtus n'a ni une mutation complète, ni une prémutation. Il a hérité d'un allèle dit dans la « zone grise ». Ses parents devront l'informer lorsqu'il sera en âge de procréer de la possibilité d'une nouvelle expansion de cet allèle « pathogène ».

La contraction du nombre de répétitions CGG au locus FMR1 dans le cas d'une transmission maternelle a été décrite seulement 38 fois dans la littérature.

**Conclusion** : La patiente, adressée initialement en consultation de génétique dans le cadre d'un don d'ovocytes pour aménorrhée secondaire, s'est découverte prémutée pour le syndrome X Fragile et aujourd'hui attend un garçon sain à qui elle a pourtant transmis son allèle expansé, mais réduit à une amplification non pathogène.

**Mots-clefs** : conseil génétique, syndrome X Fragile, insuffisance ovarienne précoce

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C013/#322

### Le syndrome Oro-Facio-Digital type 2: à propos d'une observation

Fatma Abdelhedi (1), Leila Dardour (1), Nourhène Gharbi (1), Ikhlas ben Ayed (1), Hejer Aloulou (2), Neila Belguith (1), Mongia Hachicha (2), Hassen kamoun (1)

1. Service de Génétique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie  
2. Service de Pédiatrie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant** : ABDELHEDI Fatma (abdelhedi\_f@yahoo.fr)

Le syndrome oro-facio-digital (OFD) de type 2 (syndrome de Mohr) appartient au groupe hétérogène d'OFD caractérisé par l'association de malformations de la face et des extrémités. Il s'agit d'une entité clinique très rare. Moins de 25 cas ont été rapportés jusqu'à présent. Une transmission autosomique récessive a été suggérée, mais le gène en cause n'a pas encore été identifié.

Nous rapportons le cas d'une patiente adressée à l'âge de 03 mois pour exploration d'un syndrome polymalformatif. Il s'agit de la deuxième fille d'un couple apparenté au deuxième degré, et dont la grossesse était mal suivie. L'enquête familiale était négative.

L'examen à l'âge de 3 mois note une dysmorphie faciale incluant une légère obliquité antimongoloïde des fentes palpébrales, un élargissement de la racine du nez, associée à une fente labio-palatine unilatérale et un rétrognatisme. L'examen des extrémités a mis en évidence une duplication bilatérale du gros orteil. Le reste de l'examen était sans particularités. Le caryotype sanguin, réalisé en bandes G, dans le but d'éliminer une anomalie chromosomique, était normal. Devant ce tableau clinique, un syndrome oro-facio-digital de type 2 a été fortement suspecté.

Le couple a été informé du risque de récurrence élevé (25%) à chaque grossesse et de l'impossibilité de faire un diagnostic anténatal vu que le gène de la maladie demeure encore inconnu. Une simple surveillance échographique d'une éventuelle grossesse resterait la seule alternative afin de dépister une anomalie fœtale. Par ailleurs, il s'agit d'une pathologie où l'intelligence est conservée, ce qui pose un problème éthique quant à l'indication d'une interruption thérapeutique de la grossesse.

**Mots-clefs** : syndrome oro-facio-digital type 2, conseil génétique, éthique



## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C014/#342

### Enjeux psychologiques et relationnels des consultations oncogénétiques pédiatriques. Intérêt de la collaboration médecin-psychologue

NATHALIE ALEGRE (1), NICOLAS SIRVENT (2), PASCAL PUJOL (1), ISABELLE COUPIER (3)

1. GENETIQUE, CHU ADV, MONTPELLIER, France
2. ONCO PEDIATRIE, CHU ADV, MONTPELLIER, France
3. GENETIQUE, CHU ARNAUD DE VILLENEUVE, MONTPELLIER, France

**Auteur correspondant** : COUPIER ISABELLE (i-coupier@chu-montpellier.fr)

L'activité d'oncogénétique pédiatrique est de plus en plus importante. Une analyse génétique n'est jamais anodine : elle interroge des problématiques centrales liées à la filiation, aux origines de la personne mais aussi à celles de la maladie. En pédiatrie, elle mobilise les assises identificatoires et narcissiques d'un sujet en pleine construction identitaire. Devant la sensibilité de cette situation nous proposons un dispositif de consultation incluant une collaboration étroite médecin/psychologue.

Une recherche génétique peut revêtir des enjeux psychologiques et relationnels complexes. Chez l'enfant malade et sa famille, l'identification d'un facteur de risque génétique est susceptible de venir bouleverser les théories explicatives élaborées jusque-là et majorer l'angoisse de voir la maladie revenir ou s'aggraver. Des mouvements émotionnels ambivalents peuvent apparaître, enserrant certains parents entre le soulagement apporté par le dévoilement d'une cause objective et la culpabilité relancée par la nécessité de penser les origines de la mutation identifiée (de novo ? héréditaire ?). Chez l'enfant asymptomatique, l'analyse génétique s'inscrit dans la continuité de celle de l'un de ses proches, parfois encore malade ou pouvant même être décédé. Afin d'appréhender les retentissements possibles d'une telle situation, il s'agira d'être attentif à la place que la maladie est venue prendre dans l'histoire familiale et la manière dont elle a déjà pu affecter la construction identitaire de l'enfant. Dans tous les cas, il paraît essentiel d'être sensible aux éventuels conflits (conjugaux, familiaux...) et événements avec lesquels la recherche génétique sera susceptible de venir résonner. La présentation d'un cas clinique nous permettra d'illustrer une partie de ces observations.

En raison de la complexité et de la multiplicité de ces enjeux, il nous a paru important d'associer le psychologue de manière systématique aux prises en charges pédiatriques. La famille est donc initialement reçue au sein d'une consultation conjointe oncogénéticien-psychologue. Dans ce dispositif, chaque professionnel se préoccupe, à partir de sa place propre, de cerner l'endroit où l'enfant et sa famille en sont de leur cheminement médical et subjectif vis-à-vis de l'analyse génétique. Une attention particulière est portée au discours et au comportement de l'enfant durant la consultation et à la manière dont la parole circule entre les membres de la famille. La croisée des regards professionnels favorise le partage après-coup d'hypothèses et de réflexions vouées à ajuster notre accompagnement. Avant le test, il est proposé à l'enfant et aux parents (à la fratrie si besoin) d'être reçus en entretien psychologique individuel. Ils peuvent à nouveau être reçus en consultation conjointe lors de la remise des résultats. En lien avec le soutien déjà présent, le psychologue reste disponible pour accompagner l'enfant et sa famille suite à l'annonce et au fil du futur suivi médical.

**Mots-cléfs** : oncogénétique, oncopédiatrie, enjeux psychologiques

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C015/#343

### Création d'un centre de dépistage et de prises en charge des troubles psychiatriques d'origine génétique à Lyon

Caroline Demily (1), Caroline Rigard (2), Guillaume Saucourt (2), Aude Brac de la Perrière (3), Thierry d'Amato (2), Massimiliano Rossi (4), Patrick Ederly (4)

1. Centre de dépistage et de prise en charge des troubles psychiatriques d'origine génétique, Centre Hospitalier le Vinatier et UMR 5229 (CNRS et Université Lyon 1), BRON, France
2. Centre de dépistage et de prise en charge des troubles psychiatriques d'origine génétique, Centre Hospitalier le Vinatier, BRON, France
3. Fédération d'endocrinologie, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
4. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon et Centre de Recherches en Neurosciences, Inserm U1028, CNRS UMR 5292, UCBL, LYON, France

**Auteur correspondant** : Demily Caroline (caroline.demily@gmail.com)

La prise en charge des troubles mentaux résultant d'une affection génétique reste complexe actuellement. D'une part, l'offre de soins psychiatriques spécifique destinée à ces populations particulières est quasiment inexistante et d'autre part, le diagnostic d'une affection somatique qui est à l'origine des symptômes psychiatriques n'est pas souvent fait si les points d'appel cliniques somatiques ne sont pas au premier plan.

La question de l'organicité des troubles mentaux est pourtant un problème majeur puisque 6% des psychoses seraient secondaires à une affection organique. La méconnaissance d'une pathologie sous-jacente à des troubles d'allure psychiatrique peut induire une véritable « perte de chance » pour le patient.

Parmi les affections somatiques responsables des troubles psychiatriques, les affections cytogénétiques (par exemple, la microdélétion 22q11, le syndrome de Prader-Willi ou le syndrome de Smith Magenis...) occupent une place importante et restent parfois méconnues et difficiles à repérer. Les maladies héréditaires du métabolisme (comme la maladie de Wilson ou les troubles du cycle de l'urée...) sont également pourvoyeuses de troubles mentaux. Le point important est que certaines de ces affections sont accessibles à un traitement étiologique, d'autres peuvent bénéficier de soins de stimulation adaptés au déficit.

Forts de ce constat, il nous est apparu important de pouvoir développer un outil en direction de ces patients afin d'organiser le dépistage, l'évaluation, des soins spécifiques et des stratégies de réinsertion socio-professionnelle. Parallèlement, nous avons constaté que les patients déjà pris en charge pour une affection génétique en Centres Experts labellisés ne bénéficiaient pas toujours de soins psychiatriques adaptés, faute de connaissance précise de leurs difficultés dans ce domaine.

Le « Centre régional de dépistage et de prise en charge des troubles psychiatriques d'origine génétique » vient de se structurer à Lyon grâce au soutien de l'ARS Rhône-Alpes et à une collaboration étroite entre les services de psychiatrie et de génétique clinique. Le centre accueille et évalue les patients selon un protocole précis qui sera détaillé.

**Mots-cléfs** : psychiatrie, cognition, diagnostic différentiel

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C016/#348

---

### La parentalité face à la maladie rare de l'enfant : existe-t-il des spécificités ?

Eva TOUSSAINT (1), Katia M'BAILARA (2)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France  
2. Université de psychologie, Faculté Victor Segalen, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Toussaint Eva (eva\_toussaint@yahoo.fr)

La présence d'une maladie chez un enfant peut entraîner une perte de repères dans la fonction parentale ainsi que des modifications concrètes dans différents domaines de la vie quotidienne tels que les relations sociales et amicales, les loisirs, le travail ainsi que la santé physique et mentale de l'entourage proche. Cependant très peu de travaux empiriques sont à notre disposition concernant spécifiquement la population de parents dont un enfant au moins est atteint de maladie rare. En effet la littérature s'est attachée à décrire les états psychologiques des parents qui ont un enfant avec handicap, ou qui est malade, et sur les facteurs pouvant influencer ces états parentaux. Mais y a-t-il des spécificités aux maladies génétiques rares et si oui de quoi peuvent-elles dépendre ? Une des hypothèses est que des spécificités pourraient être liées au caractère rare de la pathologie ou du moins à ce que les parents se représentent de ce que signifie une maladie rare. En effet, face à un diagnostic à la fois clairement posé mais dont les signes cliniques sont parfois difficilement saisissables, dont le pronostic est souvent inconnu, comment les parents peuvent trouver des repères. Sur quels éléments se basent-ils pour se représenter la pathologie de leur enfant ?

**Mots-clés :** parentalité, maladies génétiques rares, spécificités

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C017/#349

---

### « Et si j'ANNONCE une maladie RARE GENETIQUE, Y a-t-il des recommandations particulières? » Que dois je savoir?

Eva TOUSSAINT (1), Didier LACOMBE (2), Katia M'BAILARA (3)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France  
2. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France  
3. Université de psychologie, Faculté Victor Segalen, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Toussaint Eva (eva\_toussaint@yahoo.fr)

Annoncer une mauvaise nouvelle est toujours difficile, que l'on se place du côté du soignant qui reçoit un patient et doit la lui annoncer ou du côté du patient qui la reçoit. Cette annonce va changer le cours de la vie du patient et sa perception de l'avenir. On sait aussi que ce n'est pas que le sujet qui va recevoir l'impact de l'annonce mais tout un système familial. Des recommandations sur comment « annoncer une mauvaise nouvelle » ont été faites par la Haute Autorité de Santé et nous ne les reprendrons pas ici mais nous les compléterons.

En effet, dans notre présentation, nous verrons en quoi une annonce de maladie rare génétique est une annonce particulière. Nous aborderons: la représentation de la maladie rare génétique, l'impact transgénérationnel et intergénérationnel, la rareté extrême de ces maladies, l'absence de « nom » pour beaucoup, la notion de maladie orpheline, les conséquences de la dysmorphie, la difficulté à donner de l'information.

Il nous semble en effet essentiel que les médecins amenés à annoncer ces maladies connaissent ce qui est à l'oeuvre psychiquement pour un patient, une famille confrontée à la maladie rare génétique, cela n'en sera que facilitateur pour l'annonce et la prise en charge de ses familles.

**Mots-clés :** annonce, maladie rare génétique, spécificités

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C018/#350

### Création et mise en route d'un programme d'éducation thérapeutique dans la maladie de Gaucher

Eva TOUSSAINT (1), Isabelle RAYMOND (2), Nadia BELMATOUG (3), Fabienne EYQUARD (4), Delphine GENEVAZ (5), Anne Sophie LAPOINTE (6), Yves MAGAR (7), Marc BERGER (8), Jérôme STIRNEMANN (9), Christine SERRATRICE (10), Fabrice CAMOU (11)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, CHU Haut Lévêque, Bordeaux, France
3. Service de Médecine Interne, Hopital Beaujon (AP-HP), Clichy, France
4. Service de Médecine Interne, Hopital, Libourne, France
5. Association Vaincre les Maladies Lysosomales, Association, Massy, France
6. Association Vaincre les Maladies Lysosomales, Association, Massy, France
7. EduSanté, EduSanté, Vanves, France
8. Hématologie-Biologie, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
9. Service de Médecine Interne, Hôpitaux Universitaires de Genève, Suisse.
10. Service de Médecine Interne, Hopital St Joseph, Marseille, France
11. Service de Médecine Interne, CHU, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Toussaint Eva (eva\_toussaint@yahoo.fr)

La maladie de Gaucher de type 1, a comme de nombreuses maladies rares, une présentation clinique variable qui va nécessiter une gestion personnalisée et multidisciplinaire. L'éducation thérapeutique (ETP) peut alors être un bon support pour améliorer la compréhension de la pathologie par les patients et leur famille en leur permettant d'acquérir une plus grande autonomie dans cette maladie chronique. C'est pourquoi ce genre de programme est recommandé par les autorités de santé françaises.

Dans le cadre de la maladie de Gaucher de type 1, le programme d'ETP a été élaboré par un groupe multidisciplinaire (médecins, infirmiers, patients, association VLM, psychologue, pharmacien), experts dans la gestion de GD1, qui a retenus (après interviews des besoins des patients et des professionnels) des thèmes et des outils pédagogiques spécifiques. Ce programme a été coordonné par EduSanté avec le soutien institutionnel de Genzyme et validé par le CETG français (Comité d'Evaluation du Traitement de la maladie de Gaucher).

Le programme éducatif repose à la fois sur un schéma classique d'ETP (les différentes phases) mais dans un contexte très spécifique (GD1) et avec des techniques pédagogiques novatrices.

Ce programme est constitué :

1- un diagnostic éducatif, qui est une consultation spécifique et personnalisée avec le patient pour identifier ses besoins et organiser sa formation éducative.

2-des séances éducatives :

Trois ateliers thématiques, chacun une durée de deux heures, qui se déroulent sur une période de quatre mois et visant à acquérir l'ensemble des compétences suivantes:

-« Une meilleure compréhension de GD1 et ses conséquences »

-« Vivre avec GD1 au quotidien »

-« Une meilleure façon de gérer le traitement »

3-Puis, la dernière session, qui est de nouveau une consultation individuelle consacrée à l'évaluation (compétence acquise, retour sur le programme, sentiments du patient), au suivi et au soutien du patient et éventuellement de sa famille.

Dans ce programme chaque session est donc préparée par l'équipe avec des objectifs et des outils pédagogiques variés (diaporama, graphiques, images, travail de groupe, réflexion individuelle, livret...) afin d'être au plus près des attentes des patients et de leur famille, évaluées dans la phase de « diagnostic éducatif »

Cela permet ensuite à l'équipe de privilégier les échanges entre les patients eux-mêmes et non l'enseignement et orientation ni les règles fixées (l'idée est que le savoir peut aussi venir des patients). Chaque atelier se conclue par la reprise, avec le groupe de patients et des

proches, des points saillants qui ont fait surface au cours de chaque session.

Ce programme a été accepté par l'Office régional de la santé et l'équipe du CHU de Bordeaux a été la première à le mettre en place dans la maladie de Gaucher

**Mots-clefs :** éducation thérapeutique, gaucher, pluridisciplinaire

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C019/#355

### Difficultés d'interprétation du génotype CFTR après le dépistage néonatal de la mucoviscidose : à propos de deux cas

Marie-Pierre REBOUL (1), Stéphanie BUI (2), Michael FAYON (2), Stéphane DEBELLEIX (2), Marie-Hélène DEALBERT (1), Sylvie LABATUT (1), Corinne THEZE (3), Benoît ARVEILER (1), Benoît ARVEILER (4), Didier LACOMBE (1), Didier LACOMBE (4), Cécile ZORDAN (1), Patricia FERGELOT (1), Patricia FERGELOT (4)

1. Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
2. CRCM pédiatrique, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Université Montpellier 1, MONTPELLIER, France
4. Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA 4576, Université Bordeaux, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** REBOUL Marie-Pierre (marie-pierre.reboul@chu-bordeaux.fr)

La stratégie de dépistage néonatal de la mucoviscidose choisie en France combine le dosage de la trypsine immunoréactive chez tous les nouveaux-nés avec une recherche de 30 mutations fréquentes chez une sélection d'entre eux, avant de poser éventuellement le diagnostic par dosage du chlorure sudoral. Cette procédure conduit inévitablement d'une part à l'identification - non recherchée - de porteurs sains hétérozygotes pour la maladie et d'autre part de nouveaux-nés porteurs de formes modérées (ou frontalières) de la maladie, peu ou pas symptomatiques au moment du diagnostic et dont le pronostic est difficile à établir.

#### 1er cas

Actuellement, environ 2000 mutations du gène CFTR conduisant à la mucoviscidose sont connues. Certaines de ces mutations sont décrites comme « large spectre » dans les bases de données en particulier UMD-CFTR-France. L'interprétation de leur analyse moléculaire doit rester prudente et donc le conseil génétique délicat car il doit tenir compte du caractère modéré de certains phénotypes associés. Nous rapportons l'observation, issue du dépistage néonatal, d'un nourrisson de 5 mois portant le génotype p.[Phe508del;Arg347His] après une analyse exhaustive du gène CFTR. Ce nourrisson a des valeurs intermédiaires pour le test sudoral, il est suffisant pancréatique mais dès la première consultation il tousse et le score radiologique de Brasfield n'est pas bon. S'agit-il d'une mucoviscidose, qui aura une évolution classique, ou bien d'une pathologie associée au gène CFTR, qui se révélera plusieurs années plus tard ?

#### 2ème cas

Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de 7 mois (issu du dépistage néonatal) portant le génotype p.[Phe508del;p.Leu1376Ser]. Son test sudoral a des valeurs intermédiaires, il est suffisant pancréatique, et au niveau pulmonaire on note des opacités très discrètes. Le variant faux-sens p.Leu1376Ser n'a jamais été décrit dans la littérature et est transmis par la mère d'origine chinoise. Aussi seule l'analyse in silico avant une éventuelle étude fonctionnelle peut apporter des arguments pour interpréter ces résultats moléculaires. Du fait de l'absence de données cliniques disponibles à ce jour, il n'est pas possible de donner d'éléments pronostiques associés à ce génotype.

#### Conclusion

Ces deux observations illustrent la difficulté d'interprétation de résultats moléculaires chez des nourrissons peu symptomatiques issus du dépistage néonatal, avec des valeurs intermédiaires pour le test sudoral, et porteurs d'une mutation « large spectre » ou d'un variant faux-sens jamais décrit. Ces situations ne sont pas rares et imposent une grande prudence pour le conseil génétique. Au sein du CRCM pédiatrique la prise en charge de ces nourrissons relève aussi de la vigilance avec une consultation régulière, la mise en place d'une kinésithérapie respiratoire préventive et parallèlement la répétition des tests de la sueur.

**Mots-clés :** gène CFTR, dépistage néonatal, conseil génétique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C020/#359

### Paraparésie spastique dominante, importance de l'examen morphologique pour orienter les analyses moléculaires génétiques

Elodie Schaerer (1), Fanny Mochel (1), Bertrand Fontaine (2), Corinne Magdelaine (3), Perrine Charles (4)

1. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Département de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. UF de Génétique Moléculaire, CHU Limoges Hôpital Dupuytren, Limoges, France
4. Département de Génétique et Cytogénétique; Département de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Schaerer Elodie (elodie.schaerer@psl.aphp.fr)

Un patient âgé de 53 ans est adressé à la consultation de génétique pour avis diagnostique d'une paraparésie spastique.

Le patient se plaint de crampes fréquentes mais a un périmètre de marche illimité. A l'examen la marche est ataxo spasmodique en rapport avec un syndrome pyramidal des membres inférieurs avec un signe de babinski bilatéral. Les pieds sont creux avec des orteils en griffes. S'associe une ataxie proprioceptive avec une hypopallessthésie au niveau des chevilles.

Le patient a bénéficié d'un large bilan étiologique en neurologie associant IRM cérébrale, médullaire, EMG, PEV, PES, PEA, bilan métabolique, l'ensemble étant négatif ou non contributif. Une analyse moléculaire des gènes SPG4 / SPAST et SPG11 est revenue négative en ce qui concerne les mutations et les réarrangements de ces gènes. Une puce ADN avait également été réalisée et s'est avérée normale.

A l'interrogatoire les antécédents familiaux sont compatibles avec une transmission dominante avec une notion de paraparésie spastique sévère chez le père avec un début des symptômes vers 70 ans et une évolution rapide puisque le patient est en fauteuil roulant après 10 ans d'évolution.

En examinant le patient sur le plan morphologique, on remarque une syndactylie bilatérale des 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> doigts de chaque main opérée à gauche et un émail des dents grisé.

Le père du patient présente également une syndactylie bilatérale de même que le grand père paternel.

Une analyse moléculaire du gène GJA1 a été réalisée et une mutation hétérozygote a été mise en évidence (p.Phe2121Ile). Cette mutation n'avait jamais été décrite mais touche un acide aminé très conservé de la protéine. De plus elle ségrège avec le phénotype puisqu'elle a également été retrouvée chez le père du patient ce qui est un argument supplémentaire pour son caractère pathogène.

Nous avons précédemment rapporté deux autres familles avec des mutations du gène GJA1 avec un syndrome ODD, une pénétrance incomplète et une expressivité variable du phénotype en particulier des anomalies orthopédiques et de la paraparésie spastique.

**Conclusion :** Il s'agit du seul patient adressé pour bilan diagnostique d'une paraparésie spastique avec identification d'une mutation GJA1. En effet les autres patients pour lesquels des mutations GJA1 ont été identifiées présentaient un syndrome occulo dento digital.

Le conseil génétique pour les apparentés des patients avec mutations identifiées dans GJA1 est difficile en raison de la pénétrance incomplète et de l'expressivité variable...

**Mots-clés :** paraparésie spastique, syndactylie 4-5, expressivité variable



## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C021/#367

### Questions posées par le test génétique dans les pathologies liées au gène COL4A1 Expérience du service de génétique médicale de la Pitié-Salpêtrière

Elsa LE BOETTE (1), Marie-Laure MOUTARD (2), Vanina CASTAIGNE MEARY (3), Catherine GAREL (4), Antoinette GELOT (5), Aurélie JACQUETTE (1), Jean Marie JOUANNIC (3), Manuèle MINÉ (6), Jonathan ROSENBLATT (7), Elisabeth TOURNIER-LASSERVE (6), Delphine HERON (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, PARIS, France
2. Service de neuropédiatrie et pathologie du développement, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, PARIS, France
3. Service : Diagnostic anténatal, médecine foetale et échographie, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, PARIS, France
4. Service de Radiologie, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, PARIS, France
5. Unité de Neuropathologie, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, PARIS, France
6. Service de Génétique Moléculaire Neuro-vasculaire, Hôpital Lariboisière, PARIS, France
7. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France

**Auteur correspondant :** LE BOETTE Elsa (sasalb@hotmail.com)

Le spectre des pathologies liées au gène COL4A1, de découverte récente et de transmission autosomique dominante, est extrêmement large (neurologique, ophtalmologique, rénal, musculaire...) avec une variabilité d'expression majeure allant de formes pauci- ou a- symptomatiques chez des adultes à des encéphalopathies sévères périnatales. Quand une mutation de ce gène est identifiée chez un fœtus ou enfant, alors que ses parents sont asymptomatiques, va se poser la question du test génétique chez les deux membres du couple (DPS « inversé »). Le bénéfice médical dans ce contexte est limité et le risque d'AVC imprévisible. Mais une des questions essentielles est celle de la voie d'accouchement. Si chez la souris, les expériences mettent en évidence un risque majeur d'hémorragie lors de l'expulsion chez un fœtus porteur d'une mutation dans le gène COL4A1, aucune donnée n'est disponible chez l'homme, en ce qui concerne le risque d'hémorragie intracérébrale d'un fœtus ou d'une mère porteurs d'une mutation pathogène de ce gène.

Notre expérience au sein du service de génétique médicale de la Pitié Salpêtrière repose sur l'observation de 4 familles. Le diagnostic a été fait en post-IMG (hémorragie intracérébrale à l'échographie) pour 3 d'entre elles et en post-natal (encéphalopathie sévère) pour la 4ème. Il y a 3 mutations Glycine typiques et un variant de signification inconnue.

Nous nous sommes intéressés à la question du choix du test génétique dans ses familles :

-Pour les couples :

2 des couples ont été prélevés en même temps que le cas-index et la ségrégation a été faite de principe. Pour les 2 autres (dont la famille avec le variant), le protocole et les principes habituels des tests pré symptomatiques ont été appliqués : aucun des parents n'a souhaité connaître son statut génétique.

-Pour 2 familles élargies (mutations Glycine)

Dans la 1ère, une apparentée a fait le test qui s'est avéré favorable dans un autre service. Dans la 2ème, aucun des apparentés que nous avons rencontrés n'a réalisé de DPS, après discussion des enjeux en consultation de génétique.

-Pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal :

Chaque famille a été vue en consultation pour une nouvelle grossesse : 2 chez qui la mutation avait déjà été identifiée, 2 chez qui elle a été identifiée au cours de cette nouvelle grossesse. Les 3 couples avec mutations Glycine ont demandé un DPN : un seul s'est avéré défavorable avec décision de poursuivre la grossesse au profit d'un suivi adapté et d'un accouchement par césarienne programmée.

En conclusion, l'angoisse, évoquée par toutes les personnes à risque, que représente le risque d'accident hémorragique brutal et l'absence de bénéfice médical justifient le respect des protocoles établis pour le

DPS, en particulier le respect du droit de ne pas savoir. La question du DPN reste posée, en raison du risque d'encéphalopathie, mais aussi pour une meilleure surveillance de la grossesse et pour envisager la voie d'accouchement.

**Mots-clefs :** Conseil génétique, COL4A1, DPS inversé

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C022/#394

### Syndrome ADULT, pénétrance incomplète et conseil génétique

Christelle Cabrol (1), Mathilde Granjon (1), Juliette Piard (1), Ignace Mugabo (2), Benoit de Billy (3), Stefan Mundlos (4), Hartmut Peters (4), Lionel Van Maldergem (5)

1. Centre de Génétique Humaine, Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France
2. Unité de néonatalogie, service de gynécologie-obstétrique, Hôpital Jean-Minjoz, Besançon, France
3. Service de chirurgie pédiatrique, Hôpital Jean-Minjoz, Besançon, France
4. Institute of Human Genetics, Charité-Universitätsmedizin, Berlin, Allemagne
5. Centre de Génétique Humaine, Hôpital Jean-Minjoz, Besançon, France

**Auteur correspondant :** Cabrol Christelle (ccabrol@chu-besancon.fr)

Le syndrome ADULT ou Acro-Dermato-Ungual-Lacrymal-Tooth a été décrit pour la première fois en 1993 par Propping et Zerres dans une famille où ségrégeaient anomalies dentaires, ectrodactylie, obstruction des canaux lacrymaux, onchodysplasie et taches de rousseur. Ce syndrome appartient à la famille des dysplasies ectodermiques dans laquelle se retrouvent les syndromes EEC (ectrodactylie/dysplasie ectodermique/fente labiopalatine), LMS (« limb-mammary »), AEC (ankyloblépharon/anomalies ectodermiques/fente labiopalatine) et le syndrome de Rapp-Hodgkin (RHS). Il se distingue des autres entités cliniques par l'absence de fente oro-faciale. Ces affections sont marquées par une transmission autosomique dominante, une grande variabilité d'expression et une pénétrance incomplète, déjà décrite dans les années 60 par Emery. Elles sont liées à des mutations hétérozygotes de p63, également impliquées dans des tableaux de mains fendus/pieds fendus isolés ou de fentes labiales isolées. Le syndrome ADULT a été jusqu'à présent rapporté dans 16 cas familiaux et 3 cas sporadiques. L'analyse de p63 chez 17 cas a permis d'identifier 7 mutations différentes dont 1 prédominante (R298Q ; 47%).

Nous rapportons ici une famille dans laquelle ségrége un syndrome ADULT sur 4 générations. Le cas index est un patient âgé de 2 ans qui présente des mains et pieds fendus. Sa demi-sœur maternelle âgée de 7 ans présente une syndactylie des orteils 1-2 unilatérale et des mains fendues. Leur mère n'a aucune manifestation clinique ou radiologique au niveau des extrémités. Les trois patients présentent un antécédent d'obstruction des canaux lacrymaux. Le père de cette dernière présente une syndactylie des orteils, une calvitie de survenue précoce et des racines dentaires incluses. Un de ses frères présentait une ectrodactylie des quatre membres, de même que leur propre mère chez laquelle il s'associait une alopecie diffuse. L'analyse moléculaire de p63 a permis d'identifier une mutation à l'état hétérozygote (c. 1054G>A ; p.352G) chez le cas index, sa demi-sœur, sa mère et le père de cette dernière. Cette mutation n'a été décrite qu'une fois dans la littérature, dans un cas sporadique de fente labiale bilatérale. La singularité de notre observation est la non-pénétrance de l'anomalie des extrémités chez un sujet ne présentant qu'un antécédent d'obstruction des canaux lacrymaux, donnant naissance à deux enfants sévèrement atteints par l'ectrodactylie. Un tel contraste est non rapporté à ce jour et souligne la variabilité d'expression phénotypique de ce groupe d'affection, et le paradigme des difficultés de conseil génétique qui en découlent.

**Mots-clefs :** syndrome ADULT, pénétrance incomplète, conseil génétique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C023/#463

### Quand le statut de l'enfant révèle le risque pour les parents: diagnostic présymptomatique « inversé ». L'exemple de la dystrophie myotonique de Steinert

Elodie Schaerer (1), Aurélie Jacquette (1), Josué Feingold (2), Marcela Gargiulo (3), Ariane Herson (4), Isabelle Marey (1), Sandra Whalen (2), Delphine Héron (2)

1. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Département de Génétique et Cytogénétique; Unité de Génétique et Embryologie médicales, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière; Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
3. Département de Génétique et Cytogénétique; Institut de Myologie Centre de référence Paris Est; Laboratoire de Psychologie Clinique et Psychopathologie (EA 4056) Institut de Psychologie, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière; Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière; Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. Département de Génétique et Cytogénétique; Institut de Myologie Centre de référence Paris Est, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière; Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Schaerer Elodie (elodie.schaerer@psl.aphp.fr)

Dès 1992, les personnes à risque pour une maladie familiale à révélation tardive ont pu bénéficier de consultations de diagnostic présymptomatique (DPS) dans le département de Génétique de la Pitié-Salpêtrière.

Dans la majorité des cas, les personnes demandant un DPS sont à risque de 50% d'être porteuses de la mutation responsable de l'affection familiale, avec un des deux parents atteint. Dans certaines pathologies, la variabilité d'expression ou l'anticipation peuvent amener à porter le diagnostic chez un individu jeune alors que la maladie familiale n'est pas connue. Se pose ensuite la question du DPS chez les parents de cet individu, que l'on peut appeler "DPS inversé". Le vécu de la maladie dans ces familles, les enjeux médicaux pour ces personnes sont différents de ceux existants dans les situations habituelles de DPS. Dans ce contexte notre objectif était d'identifier la spécificité de ces demandes afin d'ajuster au mieux nos pratiques. Nous avons pris comme modèle la maladie de Steinert (DM1) où le DPS inversé est fréquent du fait de l'anticipation et où un des deux parents du descendant atteint est forcément porteur puisque il n'existe pas de néo-mutation.

**Patients et méthode**

Il s'agit d'une étude rétrospective sur 24 consultants venus à la consultation du Département de Génétique de la Pitié Salpêtrière entre mars 2006 et septembre 2013, asymptomatiques et à risque pour la DM1 suite à la découverte de la maladie chez l'un de leurs descendants.

**Résultats et discussion**

Les premiers résultats montrent que parmi ces 24 consultants, 18 étaient venus à la consultation de génétique en couple, 6 sont venus seuls (séparation, décès). L'âge moyen lors de la première consultation était de 59 ans ( $\pm 6$ ). Pour 5 d'entre eux le cas index était un petit enfant atteint (21%), pour les 19 restants le cas index était un enfant atteint (79%). Au total 17/24 consultants (soit 6 des 9 couples et 5 des 6 consultants seuls) ont choisi de réaliser le DPS, ils ont tous bénéficié d'un entretien avec la psychologue, et d'un délai de réflexion dans la grande majorité des cas (16/17). Tous les couples qui ont effectué le test ont émis le souhait de faire la démarche ensemble, ils ont été reçus ensemble et ont reçus simultanément leurs résultats. Le sentiment de culpabilité est très présent parmi les personnes qui ont réalisé le test avec notamment le souhait pour certains d'être porteurs pour « partager » la maladie avec le descendant malade.

Cette étude préliminaire permet de souligner la nécessaire adaptation du protocole à ces situations de DPS inversé. Le taux d'abandon de 3

des 9 couples souligne la difficulté à affronter le résultat du test en particulier l'impact potentiellement négatif sur leur histoire familiale. En revanche cette étude ne permet pas de détailler finement les enjeux des consultants ainsi que leur vécu du résultat. Une étude prospective complémentaire en ce sens est à mener.

**Mots-clefs :** diagnostic présymptomatique, myotonie de Steinert, conseil génétique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C024/#469

### Association d'une prémutation et d'une mutation complète au locus du gène FMR1 chez deux sœurs

Gaëlle Thierry (1), Mathilde Giraud (1), Sébastien Schmitt (1), Gaëlle Landeau-Trottier (1), Jessy Hary (1), Marie-Annick Gourlaouen (1), Albert David (1), Stéphane Bézieau (1), Pierre Boisseau (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France

**Auteur correspondant :** Thierry Gaëlle (gaellethierry@yahoo.fr)

Le syndrome de l'X fragile est la cause la plus fréquente de retard mental d'origine génétique. Une mutation complète est définie par un nombre de triplets CGG de la région 5'UTR du gène FMR1 supérieur à 200 entraînant une méthylation anormale du promoteur et à l'abolition totale de son expression. Les garçons porteurs d'une mutation complète présentent un retard mental modéré à sévère prédominant sur le langage associé, dans certains cas, à une dysmorphie faciale particulière et une macro-orchidie. Le phénotype chez les filles porteuses d'une mutation complète est variable en fonction de l'inactivation de leurs chromosomes X. Certaines sont parfaitement asymptomatiques. D'autres peuvent avoir un phénotype atténué avec des difficultés d'apprentissage et/ou des troubles comportementaux. Enfin, un certain nombre d'entre-elles peuvent présenter un phénotype de retard mental léger à modéré. La prémutation est définie par un nombre de répétitions CGG compris entre 55 et 200. Elles peuvent être responsables d'insuffisances ovariennes voire de ménopauses précoces. Nous rapportons ici le cas de deux sœurs porteuses d'une mutation complète sur l'allèle maternel et d'une extension à 59 ou 60 répétitions CGG sur l'allèle paternel. Elles présentent un retard des acquisitions prédominant sur le langage et des difficultés d'apprentissage importantes conduisant à une scolarisation dans un établissement spécialisé. Du fait de ces amplifications, ces jeunes femmes de 21 et 23 ans rencontreront probablement des difficultés à procréer. Néanmoins, dans le cadre d'une éventuelle grossesse, le conseil génétique prodigué sera particulier puisqu'elles transmettront obligatoirement une extension (prémuation ou mutation complète) à leurs enfants.

**Mots-clefs :** X fragile, prémutation, mutation complète

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C025/#490

### Quelle attitude adopter devant un profil atypique de marqueurs sériques chez des femmes enceintes n'appartenant au groupe de risque accru de trisomie 21 ?

Viviane HIMILY (1), Xavier FAVRE (2), Christian PAILLET (2), Carine ARLICOT (2), Christelle DENIS (2), Jérôme POTIN (2), Franck PERROTIN (2), Stéphanie ARPIN (1), Annick TOUTAIN (1)

1. Service de Génétique, CHU Bretonneau, TOURS, France
2. Service de Médecine Foetale, CHU Bretonneau, TOURS, France

**Auteur correspondant :** HIMILY Viviane (v.himily@chu-tours.fr)

En France, le dépistage de la trisomie 21 repose encore sur le dosage des marqueurs sériques du 1er ou du 2ème trimestre. Lorsque le risque calculé de trisomie 21 est supérieur à 1/250, une étude du caryotype fœtal par ponction de villosités choriales ou amniocentèse est proposée permettant ainsi à la patiente d'être rassurée ou d'accéder à une demande d'interruption médicale de grossesse si le « futur enfant est atteint d'une pathologie d'une particulière gravité reconnue incurable au moment du diagnostic ». En dehors du risque de trisomie 21, les valeurs brutes des marqueurs sériques permettent une orientation diagnostique. Elles doivent alors être prises en compte pour le conseil génétique des patientes ne justifiant pas un diagnostic prénatal pour risque élevé de trisomie 21, afin de les orienter vers une prise en charge échographique de niveau II. En effet, des valeurs basses de PAPP-A et de bêta-hCG libre (inférieures à 0,2 MoM) peuvent orienter vers une trisomie 18. Des valeurs très élevées de bêta-hCG libre (supérieures à 5 MoM en fonction des logiciels de calcul utilisés) rendent le résultat du calcul de risque de trisomie 21 ininterprétable, même si le laboratoire délivre un résultat chiffré. Nous rapportons le cas de 2 patientes dont le risque de trisomie 21 était évalué inférieur à 1/250 mais dont les valeurs des marqueurs sériques auraient dû attirer l'attention des praticiens. Dans le 1er cas, le risque de trisomie 21 avait été évalué à 1/290 alors que la bêta-hCG libre était à 28,54 MoM. L'échographie de 33 SA a révélé des membres au 5ème percentile, une discrète pyélectasie unilatérale et une mesure des os propres du nez au 5ème percentile. L'amniocentèse a permis de faire le diagnostic de trisomie 21. Dans le second cas, une PAPP-A et une bêta-hCG libre très basses ont conduit à estimer le risque de trisomie 21 à 1/2353 (PAPP-A : 0,152 MoM, bêta-hCG : 0,185 MoM). L'échographie de 22 SA et de contrôle à 26 SA a montré une biométrie au 10ème percentile, une hypoplasie vermiénne ainsi qu'une absence d'ouverture des mains. L'amniocentèse a confirmé le diagnostic suspecté de trisomie 18. Ainsi, une meilleure interprétation du dépistage de la trisomie 21 aurait permis d'éviter une prise en charge tardive de ces patientes. Nous complétons ces observations par la présentation des valeurs seuil pour lesquelles les laboratoires d'analyses médicales agréés pour le dépistage de la trisomie 21 donnent des recommandations.

**Mots-clés :** marqueurs sériques de trisomie 21, valeurs atypiques, recommandations

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C026/#572

### Détection inattendue d'un CNV au locus DMD chez une fille par ACPA : Quelles conséquences pour le conseil génétique, à propos de 5 observations

Karine Nguyen (1), Audrey Putoux (2), Tiffany Busa (1), Marie Pierre Cordier (3), Sabine Sigaudy (1), Marianne Till (3), Brigitte Chabrol (4), Laurence Michel (5), Rafaele Bernard (1), Perrine Malzac (6), Audrey Labalme (2), Sophie Julia (7), Chantal Missirian (1), Patrick Edery (2), Cornel Popovici (1), Nicole Philip (1), Damien Sanlaville (2)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France
2. Service de Génétique et CNRL, INSERM U1028, CNRS UMR5292, Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de Pédiatrie et Neuropédiatrie, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France
5. Service d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Département de Génétique Médicale et Espace Ethique Méditerranéen - UMR 7268 ADES, Aix-Marseille Université/EFs/CNRS, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France
7. Service de Génétique, CHU de Toulouse, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Sanlaville Damien (damien.sanlaville@gmail.com)

Depuis quelques années la technique d'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA ou CGH array) est utilisée en routine dans l'exploration des patients atteints de déficience intellectuelle et / ou syndrome malformatif. Il s'agit d'une méthode d'analyse pangénomique ayant un niveau de résolution 50 à 100 fois plus important que le caryotype. L'utilisation de cette technique a permis d'augmenter de 10 à 15 % le taux d'anomalies chromosomiques pathogènes détecté chez les patients. Cependant l'ACPA peut mettre en évidence des variations du nombre de copies (CNV) sans rapport avec l'indication initiale, dénommées couramment « incidental findings ».

Dans cette étude dicentrique, nous rapportons sur la période 2010-2013, 5 cas de CNV, identifiés en ACPA, impactant le gène de la dystrophine (locus DMD) chez des filles pour lesquelles l'indication était une déficience intellectuelle et/ou un syndrome malformatif sur un total de 4619 cas analysés (environ 0,1 %). Aucune de ces 5 filles ne présente des signes de DMD. Trois délétions de 28, 227 et 300 kb et deux duplications de 192 et 510 kb impliquant des régions codantes du gène DMD ont été identifiées. Deux délétions conservant le cadre de lecture et prédictives d'un phénotype Becker ont été retrouvées chez les pères de deux patientes. Ces pères étaient asymptomatiques avec des CK légèrement élevées respectivement à 326 et 1016 UI/l. La troisième délétion est héritée d'une mère asymptomatique. Concernant les duplications : l'une est survenue de novo et pour la deuxième, il n'a pas été possible d'analyser les parents.

Si l'on extrapole nos données au nombre d'ACPA réalisées par an (environ 13 500 en 2012, source réseau AChroPuce), environ une dizaine de CNVs au locus DMD chez des filles seront diagnostiquées par an en France suite à une ACPA prescrite pour une autre indication. Bien que dans 60 % à 70 % des cas de dystrophinopathies, les anomalies moléculaires retrouvées sont des délétions ou duplications, l'identification de CNV (de taille plus grande que les délétions ou duplications généralement détectées) impliquant le locus DMD en ACPA pose des problèmes de conseil génétique.

Nous discuterons par exemple la réelle pathogénicité et le phénotype prédit par ces CNVs (Becker ou Duchenne) liés à ces CNVs. De plus, ces observations illustrent une nouvelle fois que les données générées par l'APCA donnent accès à d'autres informations que celles strictement nécessaires pour répondre à la question pour laquelle l'indication du test a été posée. Au-delà des enjeux éthiques concernant l'annonce d'un diagnostic non sollicité, ces observations soulignent la nécessité d'informer les patients des enjeux familiaux des

résultats, à la lumière de la publication récente du décret concernant l'information à la parentèle.

**Mots-clefs** : Analyse Chromosomique sur Puce à ADN, DMD, Conseil génétique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C027/#573

### Problèmes de conseil génétique posés par les demandes de diagnostic prénatal chez les filles à risque de duplication du gène MECP2

SALIMA EL CHEHADEH (1), RENAUD TOURAINE (2), ALEXANDRA AFENJAR (3), MARIE-CLAUDE ADDOR (4), JEAN-LUC ALESSANDRI (5), THIERRY BIENVENU (6), PATRICK CALLIER (7), PASCAL CHAMBON (8), SANDRINE CHANTOT (9), CHARLES COUTTON (10), FRANCOISE DEVILLARD (11), MARTINE DOCOFENZY (12), SEVERINE DRUNAT (13), ALICE GOLDENBERG (14), PIERRE-SIMON JOUK (11), NATHALIE LE MEUR (15), SEBASTIEN LEBON (16), NATHALIE MARLE (7), DANIELLE MARTINET (17), ANNE-LAURE MOSCA-BOIDRON (7), NATHALIE PERRETTON (18), CHRISTOPHE PHILIPPE (19), FABIENNE PRIEUR (2), DAMIEN SANLAVILLE (20), VERONIQUE SATRE (10), JULIEN THEVENON (1), CHRISTEL THAUVIN-ROBINET (1), VINCENT DES PORTES (18), LAURENCE FAIVRE (1)

1. Centre de génétique, CHU de Dijon, DIJON, France
2. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
3. Unité de génétique Clinique et neurogénétique, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, PARIS, France
4. Service de génétique médicale, CHUV Lausanne, LAUSANNE, Suisse
5. Pôle enfants, CHU de la Réunion, Saint-Denis-de-la-Réunion, France
6. Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, CHU Paris Centre, Hôpital Cochin, PARIS, France
7. Service de cytogénétique, Plateau technique de biologie, CHU de Dijon, DIJON, France
8. Laboratoire de cytogénétique, CHU DE ROUEN, ROUEN, France
9. Service de génétique et embryologie médicales, CHU Paris Est, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, PARIS, France
10. Unité de génétique chromosomique, CHU DE GRENOBLE, GRENOBLE, France
11. Service de génétique et procréation, CHU DE GRENOBLE, GRENOBLE, France
12. Service de génétique, CHU de Reims, Reims, France
13. Laboratoire de biochimie génétique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
14. Unité de génétique clinique, CHU DE ROUEN, ROUEN, France
15. Laboratoire de cytogénétique, Etablissement français du sang - Normandie, Bois-Guillaume, France
16. Unité de neuropédiatrie, CHUV de Lausanne, LAUSANNE, Suisse
17. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle et prénatale, CHUV de Lausanne, LAUSANNE, Suisse
18. Service de neurologie pédiatrique, CHU de Lyon-GH Est, BRON, France
19. Service de cytogénétique et génétique moléculaire, CHU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
20. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, CHU de Lyon- GH-EST, BRON, France

**Auteur correspondant** : EL CHEHADEH SALIMA (salima.elchehadeh@chu-dijon.fr)

La duplication de la région Xq28 incluant le gène MECP2 a été décrite principalement chez des garçons présentant un retard de développement sévère associé à une spasticité, une épilepsie, des mouvements stéréotypés, et des infections sévères récurrentes. Les femmes porteuses sont dans la grande majorité des cas asymptomatiques et sont rapportées comme présentant classiquement un biais complet d'inactivation du chromosome X. Cependant, plusieurs patientes symptomatiques porteuses d'une duplication de MECP2 ont été rapportées dans la littérature à ce jour, la majorité ayant un phénotype plus modéré que les hommes atteints, faisant poser de plus en plus la question du diagnostic prénatal chez les filles de mère conductrice.

A partir d'une étude nationale menée en 2012 et ayant permis d'identifier en France une centaine de patients porteurs d'une duplication MECP2, et de l'analyse de la littérature, nous essayons d'apporter des éléments de réponse à cette question difficile sur le plan éthique. Notre étude a permis de colliger 9 patientes symptomatiques, âgées de 4.5 à 40 ans, incluant 2 jumelles. Six avaient 1 duplication Xq intrachromosomique, de novo chez les 4 dont les parents étaient disponibles, et 3 avaient une translocation X-autosome déséquilibrée survenue de novo. La taille des duplications variait de 309 Kb à 11,7 Mb. Les patientes porteuses d'une dupMECP2 peuvent présenter un phénotype aussi sévère et similaire à celui observé chez les garçons atteints lorsque la dupMECP2 est issue d'une translocation X-autosome, tandis que les filles présentant une duplication intrachromosomique présentent plutôt un retard de développement non spécifique. Dans notre série, 22% des patientes présentent une spasticité, 30% une épilepsie, 66% des mouvements stéréotypés des mains et 57% des infections à répétition.

L'analyse de la littérature permet de retrouver 15 filles porteuses de dupMECP2 de mécanismes variés : duplications résultant d'une translocation X-autosome entraînant une disomie fonctionnelle de la région Xq (n=6), insertion d'un fragment dupliqué de la région Xq au sein d'un autosome (n=2) ou duplications Xq intrachromosomiques (n=7). La majorité des réarrangements survient de novo, associée à une inactivation aléatoire de l'X. Néanmoins, 3 patientes symptomatiques (présentant un retard de développement moins sévère que les garçons atteints) ont une duplication intrachromosomique héritée de la mère (inactivation de l'X évaluée à 30/70, 63/37 et 12/88, avec dans ce dernier cas, activation préférentielle de l'X maternel porteur de la duplication). En conclusion, seules 3/22 (14%) des filles symptomatiques sont nées d'une mère conductrice. Ce travail démontre donc que les filles avec phénotype anormal et duplication héritée de la mère sont très rares, donnée importante à prendre en compte pour le conseil génétique. Une question d'ordre éthique se pose néanmoins devant un risque non nul et une demande parentale croissante.

**Mots-clefs** : duplication MECP2, Filles, conseil génétique



## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C028/#582

### Superfécondation dans le cadre d'une recherche de paternité par empreinte génétique

Wiem Manoubi (1), Ilhem Ben Charfeddine (1), Abdelbasset Amara (1), Ahlem M'sakni (2), Imene Chatti (1), Dorra Hmida (1), Imene Miniaoui (1), Ali Saad (1), Moez Gribaa (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de la Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie
2. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant :** Manoubi Wiem (wiem62@hotmail.fr)

#### Introduction :

La recherche de paternité permet, dans le cadre de la médecine légale, d'établir la filiation entre un enfant et son père en recherchant si le père présumé est ou non le père biologique. De nos jours, cette recherche se base sur les empreintes génétiques utilisant principalement des marqueurs microsatellites. En effet, chaque individu reçoit la moitié de son patrimoine génétique de sa mère et l'autre moitié de son père biologiques. Ainsi, pour être le père, un individu doit partager avec l'enfant au moins un des deux allèles de chaque marqueur étudié.

De rare cas de grossesses jumeaux ont été induit par une fécondation à partir de deux parents différents. Dans ce cas il s'agit d'une superfécondation. Cette situation, assez rare, a souvent été suspectée mais rarement confirmée.

Nous rapportons dans ce travail un cas de superfécondation confirmé génétiquement dans le cadre de la recherche de paternité par empreinte génétique.

#### Observation :

Dans le cadre de la recherche de paternité, nous avons réalisé une étude génétique sur 4 membres : une mère et ses 2 nourrissons jumeaux, issus d'une même grossesse gémellaire, ainsi qu'un père présumé. Cette étude a consisté en l'analyse de 15 marqueurs microsatellites par le kit « PowerPlex 16 System » et par le séquenceur « ABI prism 310 » chez ces 4 membres.

#### Résultats :

Les analyses génétiques ont été réalisées dans les mêmes conditions techniques et ont montré qu'un des deux jumeaux possède les mêmes allèles que son père, alors que l'autre nourrisson présente des allèles différents par rapport à ceux du père présumé dans 11 marqueurs sur 15. Par conséquent, et malgré que ces deux enfants sont des jumeaux, leurs pères biologiques sont différents.

#### Discussion et conclusion :

La superfécondation, est une situation obstétricale rare et très particulière. Elle est secondaire à une fécondation de 2 ovocytes provenant de la mère par deux spermatozoïdes provenant chacun d'un père différent.

Dans ce travail, nous avons pu confirmer cette situation en utilisant les outils de la génétique moléculaire. Cependant, leurs implications cliniques et biologiques, s'ils en ont, restent encore inconnues.

**Mots-clés :** Superfécondation, Empreinte génétique, Recherche de paternité

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C029/#593

### Insertion scolaire dans le syndrome de Williams : existe-t-il un pattern cognitif explicatif ? Exploitation des résultats de l'étude CNSA

Caroline Rigard (1), Massimiliano Rossi (2), Jennifer Gallard (3), Marion Kaestle (4), Sylvie Odent (5), Miryam Mikaty (5), Laurence Faivre (6), Sophie Chancenotte (6), Nicole Philip (7), Odile Perret (7), Didier Lacombe (8), Isabelle Guillain (8), Sylvie Manouvrier (9), Delphine Héron (10), Coralie Rastel (10), Patrick Ederly (2), Alain Verloes (3), Pierre Sarda (4), Caroline Demily (11)

1. Centre de dépistage et de prises en charge des troubles psychiatriques d'origine génétique, Centre Hospitalier Le Vinatier, Bron, France
2. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Centre Est et Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon (Inserm U1028, UMR 5292), Hospices Civils de Lyon GHE et Université Claude Bernard, Lyon, France
3. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Ile de France, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Midi Pyrénées, Centre Hospitalier Universitaire Régional de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
5. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Ouest, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France
6. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Est, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
7. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Sud-Est, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, Hôpital de la Timone, Marseille, France
8. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Sud-Ouest, Hôpitaux de Bordeaux, GH Pellegrin, Bordeaux, France
9. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Nord Est, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
10. Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, La Pitié Salpêtrière, Paris, France
11. Centre de dépistage et de prises en charge des troubles psychiatriques d'origine génétique et Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon (UMR5229), Centre Hospitalier Le Vinatier et Université Claude Bernard, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Rigard Caroline (caroline.rigard@ch-le-vinatier.fr)

Le syndrome de Williams-Beuren (SWB) est caractérisé sur le plan clinique par une dysmorphie, une atteinte cardiovasculaire, un retard psychomoteur, un profil neuropsychologique typique, la possible présence d'une hypercalcémie néonatale. Il est causé par une microdélétion 7q11.23.

L'étude CNSA, menée en 2011/2012 par la Fédération des Centres de Référence Nationaux « Anomalies du Développement », a permis l'évaluation neuropsychologique, médicale et socio-éducative de 696 patients porteurs d'anomalies chromosomiques (âge : 4-20 ans), dont 57 porteurs du SWB (22 F, 35 H ; moyenne d'âge : 11 ans).

Nous avons réalisé une analyse préliminaire des données concernant le SWB, afin d'évaluer si la situation scolaire des patients était corrélée à leur profil cognitif global.

Nous avons identifié 5 catégories de profils scolaires : 1) classe maternelle ordinaire; 2) maintien en maternelle ( $\geq 2$  redoublements); 3) classe ordinaire primaire; 4) classe adaptée primaire/collège (CLIS, SEGPA, ULIS); 5) prise en charge médico-sociale (IME, IMPro). Aucun enfant n'était au collège en classe ordinaire. Sur la base des évaluations neuropsychologiques (WISC-IV, WPPSI-III, EDEI-R, PEP-3, BLR), le niveau cognitif global des personnes a été estimé suivant 5 catégories selon le Quotient Intellectuel (QI) lorsqu'il pouvait être calculé ou les Ages de Développement (AD) : 1) troubles cognitifs sans Déficience Intellectuelle (DI); 2) DI légère (QI : 50-69 ou AD : de 9 à 12 ans); 3) DI modérée (QI : 35-49 ou AD : de 6 ans à 8 ans 11 mois); 4) DI sévère (QI : 20-34 ou AD : de 3 ans à 5 ans 11 mois); 5) DI profonde (QI

L'analyse des données observées montre qu'il n'y a pas de lien évident entre le niveau cognitif global et le type de scolarisation. En particulier :

- 30% des patients avec une DI modérée sont scolarisés en classe adaptée et le même pourcentage dans une structure médico-éducative, deux orientations bien différentes pour des enfants au niveau cognitif global équivalent. De même, si la majorité des enfants avec DI légère est scolarisée en classe ordinaire ou adaptée, 36% sont scolarisés en IME/IMPro.

- 3 enfants sont maintenus en maternelle (2e redoublement en fin de cycle).

Différentes questions se posent:

- Existe-t-il d'autres éléments de la sphère cognitive, tels que le développement des fonctions exécutives, de la cognition sociale ou de la métacognition, qui interviennent dans l'orientation scolaire des enfants SWB ?

- Le dispositif scolaire en place correspond-t-il aux besoins des enfants ? Est-il homogène ou non selon les régions considérées ?

Ces premiers résultats attestent de la nécessité d'une approche intégrative systématique de l'enfant porteur d'un SWB pour améliorer sa prise en charge et permettre son intégration dans une structure scolaire adaptée.

Nous poursuivrons cette étude en analysant l'impact des troubles du comportement (Child Behavioral Checklist/échelles Connors) sur l'insertion scolaire et sociale des patients SWB.

**Mots-clefs** : syndrome de Williams-Beuren, insertion scolaire, cognition

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C030/#605

### Maladie de Van Hippel Lindau et phéochromocytome entre clinique et conseil génétique (À propos de 2 familles marocaines)

sanaa Nassereddine (1), hind Dehbi (1), nadia Serbati (1), ghizlane Jebrane (2), sellama Nadifi (2)

1. Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire, CHU Ibnou Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

2. Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire, CHU Ibnou Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

**Auteur correspondant** : nassereddine sanaa (nassereddinesanaa@yahoo.fr)

La maladie de Von Hippel Lindau (VHL) est une affection génétique prédisposant au développement de tumeurs du système nerveux central, de la rétine, des reins, du pancréas et des surrénales ; ces dernières se manifestant par un phéochromocytome.

La maladie touche une personne sur 36000 ; le gène VHL, situé en 3p25-26, est un gène suppresseur de tumeur qui joue un rôle majeur dans la régulation de l'expression du VEGF qui est un facteur favorisant l'angiogénèse.

Nous rapportant le cas de 2 familles marocaines chez qui le diagnostic génétique de VHL est établi à partir de la découverte de phéochromocytome

**Mots-clefs** : Maladie de Van Hippel Lindau, phéochromocytome, clinique et conseil génétique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C031/#616

### Nouvelles techniques en antenatal, les parents ont ils vraiment le choix?

Eva TOUSSAINT

Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France

**Auteur correspondant** : Toussaint Eva (eva\_toussaint@yahoo.fr)

Mon propos sera d'exposer comment, d'un côté: les avancées des techniques médicales et de la génétique et de l'autre les attentes des parents se mêlent, se répondent et s'entrechoquent. Mon support théorique viendra de la psychologie, mais aussi de l'éthique et de la philosophie. « C'est donc bien aux influences réciproques de la vie psychique et de la vie somatique qu'est confrontée la médecine d'aujourd'hui, l'obligeant à repenser ou à reformuler ses avancées ».

Peu de comportements humains aussi naturels que la procréation n'auront connus en si peu de temps autant de transformations artificielles. Les progrès de la maîtrise de la natalité avec les moyens de contraception impliquent que maintenant devenir parent est souvent un projet réfléchi, discuté, calculé... Avoir un enfant est « maîtrisé ».

L'enfant est donc pour la plupart du temps, inscrit dans le projet des parents, il est l'objet d'une réelle planification, notamment pour la femme qui, grâce aux moyens de contraception, peut décider d'être enceinte.

Parmi les nouvelles technologies utilisées pendant la grossesse, c'est actuellement la génétique qui est au premier plan. Qu'elles sont les spécificités de la génétique médicale? La génétique médicale se distingue des autres spécialités médicales par sa projection familiale. Elle concerne les éléments fondamentaux de l'être humain et de la société dans la mesure où elle touche à la filiation et questionne la potentielle normalisation de l'être humain. Les développements technologiques récents, comme les analyses pan-génomiques (puces à ADN), les prédispositions génétiques dans certaines maladies ou le séquençage de l'ADN à haut débit, posent des questions supplémentaires sur ce qui nous détermine: l'inné ou l'acquis? Qu'elle place reste-t-il aux parents? Surtout au moment d'une grossesse, c'est à dire à un moment si particulier pour le psychisme des parents.

On en arrive à un désir d'enfant sacralisé, médicalisé, comme un nouvel objet médical.

Si savoir est un risque (pas toujours compris comme tel, nous le verrons plus tard), « ne pas savoir est intolérable quand justement on a les moyens de la connaissance ». Nous sommes à une époque où l'incertitude médicale est mal vécue par les futurs parents, à une époque où la médiatisation des connaissances et des progrès médicaux peut faire croire que le doute n'existe plus.

En fait, que veulent vraiment savoir les parents sur leur fœtus ? À la recherche de quelle normalité sont-ils ? Nous aborderons, à travers plusieurs situations (auxquelles les parents peuvent être confrontés les parents au cours d'une grossesse), l'état psychique dans lequel peuvent être ces couples.

Malgré les nouvelles technologies en antenatal, on peut imaginer que les parents continueront à rêver leur enfant, et que même si leurs rêves seront bien différents de ce que rêvent les parents aujourd'hui, c'est dans cette capacité à rêver que le bébé et donc l'humain pourra continuer à se construire.

**Mots-clefs** : diagnostic antenatal, psychologie, éthique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C032/#626

### Diagnostic génétique post-mortem dans une série de 36 patients décédés de mort subite.

Isabelle Marey (1), Véronique Fressart (1), Paul Fornes (2), Caroline Rambaud (3), Laurent Martin (4), Estelle Gandjbakhch (1), Audrey Mallet (1), Elsa Le Boette (5), Céline Bordet (5), Geoffroy Lorin de la Grandmaison (3), Pascale Richard (1), Philippe Charron (1)

1. Centre de référence pour les maladies cardiaques héréditaires, département de génétique, UF Cardiogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service d'anatomie pathologique, CHU Reims, Reims, France
3. Service d'anatomie pathologique, CHU Raymond Poincaré, Garches, France
4. Service d'anatomie pathologique, CHU Dijon, Dijon, France
5. Centre de référence pour les maladies cardiaques héréditaires, département de génétique, UF Cardiogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** MAREY Isabelle (isabelle.marey@yahoo.fr)

**Contexte.** L'incidence de la mort subite cardiaque augmente avec l'âge parallèlement à la prévalence de la maladie coronarienne. Cependant, les morts subites du sujet jeune (

**Objectif.** Le but est de rapporter notre expérience du test génétique post mortem après mort subite et autopsie.

**Méthodes et résultats.** Nous avons étudié 36 patients décédés subitement avec un diagnostic probable de cardiomyopathie, établi soit lors de l'autopsie soit connu avant le décès, avec 6 cardiomyopathies dilatées (CMD), 12 hypertrophiques (CMH), 2 CMH/CMD, 1 restrictive (CMR), 14 ventriculaires droites arythmogènes (CVDA), 1 CMH/non compaction myocardique. Un test génétique post-mortem a été réalisé dans tous les cas (habituellement sur tissu congelé en post-autopsie, quelquefois sur prélèvement réalisé en pré-mortem) et 13 mutations ont été identifiées: 3 mutations dans le gène DSP, 1 dans LMNA, 1 dans MYBPC3, 2 dans MYH7, 3 dans TNNI3 et 3 mutations dans TNNT2.

L'identification de ces mutations a permis de (i) redresser dans un cas le diagnostic de la cardiomyopathie (CMD correspondant en fait à une CMH ayant évolué vers la CMD), (ii) confirmer un diagnostic incertain de CMH dans un cas, (iii) confirmer dans tous les cas l'origine génétique même en l'absence de contexte familial, (iv) guider le conseil génétique dans tous les cas (soit par la proposition d'un test génétique prédictif chez les apparentés soit par l'identification de mutation de novo) de façon à permettre une surveillance cardiaque individualisée et permettre une prise en charge thérapeutique précoce.

La réalisation de tests génétiques post-mortem pose cependant divers problèmes: (i) l'analyse est actuellement restreinte car orientée par le phénotype identifié à l'autopsie; (ii) un résultat négatif ne permet pas d'écarter les diagnostics évoqués; (iii) l'analyse est conditionnée par les modalités de conservation autopsique; (iv) l'encadrement médico-légal des tests post-mortem (consentement, rendu de résultat) apparaît insuffisant et mériterait d'être clarifié.

**Conclusion.** Ce travail constitue à notre connaissance la première série française de test génétique post-mortem après mort subite. Nos résultats suggèrent à la fois la faisabilité de l'approche et le bénéfice de la démarche afin d'améliorer la prise en charge des familles. Le test génétique post mortem doit prendre sa place dans la stratégie générale de prise en charge familiale après une mort subite et suspicion de cardiomyopathie.

**Mots-clés :** Cardiomyopathie, diagnostic post-mortem, mort subite

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C033/#638

### Forme infantile de la maladie de Steinert : devenir à l'âge adulte

Aurelia Jacquette (1), Jennifer Fabre-Teste (1), Elodie Schaefer (1), Anna Serova (1), Hélène Radvanyi (2), Bruno Eymard (3), Delphine Héron (1)

1. Département de génétique, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Laboratoire de biochimie et de génétique moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, APHP, Boulogne-Billancourt, France
3. Institut de Myologie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

**Auteur correspondant :** Jacquette Aurelia (aurelia.jacquette@psl.aphp.fr)

#### Introduction

La forme infantile de la maladie de Steinert se distingue parmi les formes pédiatriques de la maladie par un âge de début entre 1 et 10 ans, une absence de signes en période pré ou néonatale et un développement psychomoteur précoce normal. Ces patients présentent habituellement des difficultés scolaires et dans environ 60% des cas une déficience intellectuelle légère. On sait de ces patients que les symptômes musculaires n'apparaissent que plus tardivement mais il n'existe que très peu de données concernant leur insertion scolaire, sociale et professionnelle. D'autre part, la littérature fait état de conditions socioéconomiques déjà détériorées dans la forme classique de la maladie (taux de chômage élevé, plus faible niveau de revenu, forte fréquence des recours à l'aide sociale, faible pourcentage de patients vivant en couple ou ayant des enfants...) alors que la plupart de ces patients ont eu une scolarité normale et leurs troubles n'ont débuté qu'à l'âge adulte.

Nous avons donc souhaité évaluer l'évolution à l'âge adulte des aspects médicaux et socioéconomiques dans une cohorte de patients présentant une forme infantile de DM1 suivie régulièrement à la Pitié-Salpêtrière.

#### Patients et méthodes

44 patients, âgés de 20 ans et plus, atteints de forme infantile, à l'exclusion de toute autre forme de la maladie, suivis soit à l'institut de Myologie, soit dans le Département de Génétique de la Pitié-Salpêtrière ont été contactés par téléphone, et 32 ont pu être revus en consultation. Pour tous, une grille d'évaluation a été complétée comportant des données cliniques, moléculaires, scolaires, sociales et professionnelles.

#### Résultats- Discussion

Les patients recontactés étaient âgés de 19 à 37 ans ( $25.75 \pm 4.16$ ) avec un sex ratio de 0.42. L'âge moyen au diagnostic était de 13.7 ans. Le nombre moyen de CTG de 600 avec 21 cas de transmission maternelle. La plupart des patients avaient un MIRS entre 2 et 3 (atteinte musculaire distale ou proximale peu sévère). Le parcours scolaire était marqué par un pourcentage de déscolarisation précoce (école élémentaire) élevé (38% vs 11% dans la population générale) et la vie professionnelle par une faible proportion de patients travaillant en milieu ordinaire (24%) et une proportion élevée de patients sans emploi (38%). L'insertion sociale était également faible, avec plus de 80% des patients qui vivaient chez leurs parents. L'évaluation de la prise en charge montrait que les aspects moteurs ou cardiologiques de la pathologie étaient bien suivis, alors qu'en revanche, les aspects cognitifs étaient moins fréquemment pris en charge que pendant l'enfance, ce qui contribue peut-être à aggraver les difficultés socioéconomiques chez ces patients et qu'il conviendrait donc de renforcer.

**Mots-clés :** maladie de steinert, forme infantile, histoire naturelle

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C034/#646

### Dépistage néonatal de la drépanocytose et conseil génétique: une année d'expérience en Rhône-Alpes.

Coline Poizat-Amar (1), David Cheillan (2), Pascal Gaucherand (3), Philippe Joly (4), Alain Francina (4), Corinne Nakache (5), Corinne Pondarre (5), Patrick Ederly (1)

1. Service de génétique clinique, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France
2. Maladies Héritaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, Groupement Hospitalier Est, Bron, France
3. Servie d'Obstétrique, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France
4. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Unité Pathologie Moléculaire du Globule Rouge, Hôpital Edouard Herriot, Lyon
5. Consultation d'hématologie et d'Oncologie Pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron

**Auteur correspondant :** Poizat-Amar Coline (coline.poizat-amar@chu-lyon.fr)

La drépanocytose est la plus fréquente des hémoglobinopathies et se transmet sur le mode autosomique récessif. Le dépistage néonatal de cette affection est réalisé dans le cadre d'un programme national. Il est effectué chez tous les nouveau-nés depuis 1989 dans les Antilles, puis a rapidement été instauré en Guyane, à Mayotte et à la Réunion. En métropole, l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) a mis en place en 1995 le programme national du dépistage ciblé de la drépanocytose. Il est généralisé à l'ensemble du territoire depuis l'année 2000 et concerne seulement les nouveau-nés à risque originaires des Antilles, d'Afrique noire et d'Afrique du Nord.

Ce dépistage repose principalement sur l'électrophorèse de l'hémoglobine, grâce au test de Guthrie réalisé au 3ème jour de vie. Il permet de distinguer les nouveau-nés atteints, les nouveau-nés indemnes hétérozygotes et les nouveau-nés homozygotes sains. En France, aucune recommandation n'est établie, ni sur les modalités de transmission de ces résultats aux parents, ni sur la conduite à tenir en cas de dépistage d'une hétérozygotie (il existe toutefois une proposition d'organigramme par l'AFDPHE), les pratiques sont donc variables d'une région à l'autre. A Lyon, tous les résultats anormaux sont centralisés par l'Union Rhône Alpes pour le Dépistage des Handicaps de l'Enfant (URPHE).

Lorsque le dépistage révèle un enfant atteint de la drépanocytose, l'information est transmise à l'Institut d'Hématologie et d'Oncologie Pédiatrique (IHOP) qui prendra alors en charge médicalement l'enfant et nous recevons les parents en consultation de conseil génétique. Lorsqu'un enfant est dépisté hétérozygote, nous envoyons un courrier explicatif aux parents, accompagné du livret « Etre hétérozygote, et alors... » et d'une ordonnance d'électrophorèse de l'hémoglobine pour chaque parent. Si les deux parents sont hétérozygotes, une consultation de conseil génétique leur est proposée. Lorsqu'un seul des deux parents est hétérozygote, un courrier explicatif lui est à nouveau envoyé, dans lequel nous lui proposons une consultation de conseil génétique et lui demandons de diffuser l'information dans la branche familiale concernée, afin que les hétérozygotes potentiels puissent à leur tour bénéficier d'une électrophorèse de l'hémoglobine. Cette pratique permet théoriquement un dépistage large des hétérozygotes dans les populations à risque.

Néanmoins, de nombreux parents ne souhaitent pas bénéficier du dépistage d'hétérozygotie personnel ou familial, ce qui pose clairement un problème d'application du récent décret d'information à la parentèle. Nous posons ici les questions de l'efficacité, du coût et des enjeux éthiques des pratiques régionales hétérogènes du dépistage des hétérozygotes pour la drépanocytose, d'autant qu'aucune évaluation n'est disponible à ce jour.

**Mots-clefs :** dépistage néonatal de la drépanocytose, hétérozygotie, enjeux éthiques

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C035/#648

### L'évolution technologique en génétiques questionne les frontières et les catégories établies

Sophie Julia (1), Alexandra Soulier (2), Samantha Leonard (1), Anna Pigeon (2), Emmanuelle Rial-Sebbag (2), Anne Cambon-Thomsen (2)

1. Service de Génétique, CHU de Toulouse, Toulouse, France
2. UMR1027, Equipe 4 Génomique, biothérapie et santé publique : approche interdisciplinaire, Inserm, Univ Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** Julia Sophie (julia.s@chu-toulouse.fr)

Le domaine des maladies rares et de la génétique clinique offre une scène intéressante pour étudier le lien entre des avancées technologiques dont la portée est à définir, une connaissance scientifique en construction et des décisions pratiques engageant les projets de vie des patients. Le transfert en clinique des technologies à haut débit brouille les distinctions entre pratiques diagnostiques et recherche, fournit des informations de nature variée qui introduisent de nouvelles catégories de risques et remettent en cause notre acception des maladies et la temporalité du diagnostic. En matière de nouvelle technologie l'approche éthique se limite trop souvent à l'habituelle analyse entre avantages et risques ; notre analyse s'attache à souligner comment l'innovation technologique en génétique modifie les "frontières" conceptuelles considérées jusque-là comme claires et nettes. Elle fait apparaître les éléments suivants.

La diversité des données produites complexifie l'interprétation et la communication des résultats. Les cliniciens rencontrent ainsi des difficultés à garder une démarche clinique cohérente. Les patients sont appelés à prendre en considération les différents registres de résultats et les mesures à adopter en cas de résultats positifs, incertains ou inattendus.

Les variant génomiques identifiés remettent en question la définition de «facteur causal de maladie», «facteur de risque» et «variante de la norme». L'évolution actuelle nécessite également l'introduction de nouvelles nomenclatures et terminologies pour la classification des données génomiques et cliniques.

Le stockage à long terme des échantillons biologiques et des données associées se pose à la frontière de la recherche clinique et de l'acte médical. En effet les banques constituées à des fins sanitaires et celles qui le sont à des fins de recherches scientifiques obéissent à des régimes juridiques différents.

Dans le domaine de l'oncologie les diagnostics incidents des études pan génomiques et le typage tumoral d'après le profil génétique introduisent également une zone de rencontre entre génétique somatique et génétique constitutionnelle.

Enfin le transfert en diagnostic des nouvelles technologies bouleverse non seulement les pratiques mais aussi la culture du personnel et l'organisation des laboratoires implique la restructuration socio-professionnelle des métiers de la génétique.

Ainsi le transfert en diagnostic des nouvelles technologies de séquençage:

F Place le patient en dehors des frontières établies entre recherche et clinique

F Soumet les pratiques médicales à des tensions notamment sur le plan des fondements cognitifs

F Modifie la production, l'interprétation, l'usage et la régulation de l'information génétique.

Nous exposerons en quoi les cadres éthiques existants sont eux-mêmes questionnés par cette évolution.

**Mots-clefs :** Evolution des technique en génétique, Information Génétique, Encadrement des pratiques



## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C036/#652

### La place des demandes de DPI en CPDPN

Emilie Consolino, Tiffany Busa, Audrey Mallet, Nicole Philip, Sabine Sigaudy, Marie Antoinette Voelckel  
Service de génétique clinique, Hôpital Timone enfants, Marseille, France

**Auteur correspondant :** CONSOLINO Emilie (emilie.consolino@ap-hm.fr)

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) est une alternative au diagnostic prénatal (DPN) pour les couples à risque de transmission de maladie génétique sévère. En France, la pratique du DPN et du DPI sont encadrées par la loi de bioéthique de 1994, révisée en 2011. Ainsi les indications dépendent des notions de particulières gravités et d'incurabilité discutée en réunion dans les centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN). Le décret de 2006 définit l'organisation des CPDPN en y intégrant une équipe médicale et paramédicale.

Dans le département de génétique médicale de l'hôpital de La Timone à Marseille, en consultation de conseil génétique, le DPI est proposé au même titre que le DPN lorsque les indications le permettent. Chaque demande de DPI est alors discutée en réunion hebdomadaire du CPDPN. Ces demandes sont de plus en plus nombreuses.

Pour améliorer la prise en charge et le suivi des couples, une consultation assurée par un conseiller en génétique a été mis en place dès 2007. Cette organisation privilégie un interlocuteur unique entre les patients et les professionnels.

Nous proposons de montrer quelle est la place des demandes de DPI, dans le CPDPN Marseille-Centre. Nous avons aujourd'hui un recul de 7 ans et proposons de faire le bilan sur les deux dernières années après 5 ans d'une organisation visant à simplifier les démarches des couples.

**Méthode :**

Nous avons utilisé la base de données Viewpoint dans laquelle sont rentrés tous les dossiers discutés en réunion du CPDPN. Nous avons recueilli les chiffres des demandes de DPI par an sur une période de 7 ans.

Au cours des deux dernières années, nous avons comparé les demandes de DPI aux demandes de DPN.

**Résultats :**

Le nombre total de demandes de DPI, en augmentation régulière, sur les 7 ans est de 91.

Ceci a abouti à 11 naissances et une grossesse encours

Au cours des années 2012 et 2013 nous avons enregistré 23 demandes de DPI (21 pour antécédent de maladie génique et 2 pour anomalie chromosomique) pour 65 demandes de DPN (59 pour maladie génique et 6 pour anomalie chromosomique). Ce bilan est arrêté au 1er octobre 2013.

En 2012, deux dossiers ont été discutés pour une demande de DPN ; puis suite à une IMG, nouvellement discutés dans le cadre d'une demande de DPI. Un dossier a été présenté pour demande simultanée de DPI et DPN.

En 2013, on retrouve la présentation d'un dossier pour lequel une demande de DPN a été formulée pour antécédent d'anomalie chromosomique et maladie génique. L'indication du DPI semble préférable à celle du DPN dans ce contexte (risque élevé d'IMG)

**Conclusion :**

Une augmentation constante de demande de DPI, dans notre CPDPN, est observée depuis 2007, pour se stabiliser au cours des 3 dernières années (15/an), ceci étant en accord avec le dernier bilan de l'agence de biomédecine.

L'augmentation constante de demandes de DPI depuis 2007 montre la bonne confiance des couples en cette prise en charge, malgré la lourdeur de la technologie.

**Mots-clefs :** DPN, DPI, CPDPN

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C037/#679

### Patients trisomiques 21 âgés et maladie d'Alzheimer : perspectives diagnostiques

Anne-Sophie Rebillat (1), Clotilde Mircher (2), Aimé Ravel (3), Michel Muir (3), Silvia Sacco (4), Martine Conte (3), Charles Bouis (5), Marie-Odile Rethoré (3), Franck Sturtz (3)

1. Consultation, institut Jérôme Lejeune, Paris, France
2. Consultation, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
3. Consultation, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
4. Consultation, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
5. Consultation, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France

**Auteur correspondant :** Rebillat Anne-Sophie (annesocarret@yahoo.fr)

L'espérance de vie des patients trisomiques 21, comme celle de la population en général, a considérablement augmenté.

En effet, la prise en charge de la trisomie et de ses complications ne cesse de s'améliorer et on observe aujourd'hui une nouvelle génération de patients trisomiques 21, âgés de plus de 50 ans.

Ceux-ci présentent un vieillissement accéléré et une prévalence élevée de déclin cognitif associé à des lésions neuropathologiques identiques à celles de la maladie d'Alzheimer. Il s'agit notamment des plaques amyloïdes dont le gène de la protéine précurseur, l'APP, se trouve sur le chromosome 21.

Le diagnostic de démence chez ces patients répond à deux principales difficultés :

- dépister et traiter les principales comorbidités, car elles ont un retentissement sur les performances cognitives
- réaliser une évaluation cognitive adaptée et fiable

**Objectifs :**

- identifier les principales comorbidités rencontrées chez les patients trisomiques 21 vieillissants
- revue de la littérature des principales échelles d'évaluation de la démence chez les patients Down Syndrome

**Méthodes :**

- Etude rétrospective de données informatisées d'une cohorte de plus de 4000 patients porteurs d'une trisomie 21 complète, suivis annuellement à la consultation de l'Institut Jérôme Lejeune, entre 1999 et 2013.

- Recherche Medline de références bibliographiques d'après les mots-clés « down syndrome and dementia » et revue des outils diagnostiques utilisés pour le diagnostic de démence type Alzheimer à partir de la littérature et de l'enquête de pratiques auprès des consultations mémoire d'Ile de France.

**Résultats :**

- les comorbidités les plus souvent rencontrées chez les patients trisomiques 21 vieillissants sont l'hypothyroïdie, l'apnée du sommeil, la dépression, les troubles visuels et auditifs, les carences en vitamines D, B9 et B12, les syndromes douloureux frustes, l'épilepsie.

- il n'existe pas de consensus quant au diagnostic de maladie d'Alzheimer chez les patients trisomiques 21, dont l'évaluation est assez hétérogène. En pratique, imagerie cérébrale et biomarqueurs sont peu utilisés. Les échelles neuropsychologiques le plus souvent citées dans la littérature sont la DSDS, la SIB, la VSMS, le DMR. L'interrogatoire de l'entourage, l'évaluation de l'autonomie et des mesures répétées sont indispensables.

**Conclusion :**

Comme pour tout patient gériatrique, il est important de bien connaître les comorbidités des démences chez les patients trisomiques 21, afin de les dépister et de les traiter.

Il n'existe pas de consensus quant au diagnostic de maladie d'Alzheimer chez ces patients, d'où l'intérêt à l'avenir de réaliser des études prospectives multicentriques, incluant évaluation clinique standardisée et biomarqueurs.

**Mots-clefs :** trisomie 21, alzheimer, diagnostic

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C038/#698

### Pli cutané pyramidal sur le gros orteil comme signe pathognomonique du syndrome du Ptérygium Poplité dans une famille Congolaise présentant une large variabilité intrafamiliale

Paulo Bunga (1), Koenraad Devriendt (2), Prosper Lukusa Tshilobo (3), Aimé Lumaka (3), Gerrye Mubungu (1), Emmanuel Nkidiaka (1), Bruno-Paul Tady (1)  
1. Département de Pédiatrie, Université de Kinshasa, Kinshasa, Congo  
2. Center for Human Genetics, Catholic University of Leuven, Leuven, Belgique  
3. Centre de Génétique Humaine, Université de Kinshasa, Kinshasa, Congo

**Auteur correspondant :** Lukusa Tshilobo Prosper (p.lukusat@gmail.com)

Le syndrome du Ptérygium Poplité (PPS, OMIM 119500) est une maladie autosomique dominante qui touche environ 1 personne sur 30000 naissances. Les manifestations cliniques comprennent : fentes labiales et/ou palatines, syngnathie, ankyloblépharon filiforme, ptérygium dans la région poplitée, pli cutané pyramidal sur le gros orteil, syndactylie, oligodactylie et anomalies des organes génitaux. De nombreuses publications ont mis en évidence la variabilité tant intra qu'inter familiale du phénotype.

D'autre part, les manifestations du PPS se superposent à celles du syndrome de Van Der Woude (VWS, OMIM 119300) dont le phénotype est constitué par l'association de fente labiale et/ou palatine avec des sinus sur la lèvre inférieure. Cela rend difficile le diagnostic, la classification et le counseling des patients atteints de PPS mais présentant un phénotype incomplet ou inhabituel. En outre, le PPS et le VWS sont des maladies alléliques causées par des mutations perte de fonction / délétions dans un même gène codant pour un facteur de transcription, l'IRF6 (Interferon Regulatory Factor 6).

Nous rapportons une famille de la République Démocratique du Congo, dont le père âgé de 42 ans et ses deux enfants présentent le PPS. Le séquençage de l'IRF6 a confirmé le diagnostic en mettant en évidence une mutation NM\_006147.2 (IRF6):c.250C>T, p. Arg84Cys chez tous les 3 patients. Vu que le phénotype était discret chez le père (sinus sous la lèvre inférieure et pli cutané pyramidal sur le gros orteil) et modéré chez sa fille de 16 ans (bande fibreuse s'étendant de la face postérieure de la cuisse au talon), le diagnostic du PPS n'a pu être posé qu'à la naissance du cadet qui était plus affecté. Ce retard de diagnostic n'a pas permis à la famille de bénéficier d'un conseil génétique qui aurait pu prévenir la naissance d'un enfant sévèrement atteint.

Nous avons noté qu'en dépit d'une grande variabilité intrafamiliale, le pli cutané pyramidal sur le gros orteil était le seul signe présent chez toutes les personnes atteintes.

**Mots-clés :** Ptérygium Poplité, Pli cutané pyramidal, conseil génétique, Van Der Woude

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C039/#705

### Les chromosomes marqueurs surnuméraires en prénatal: les difficultés de diagnostic et du conseil génétique : A propos de 6 cas.

Hena SAFRAOU (1), Ines OUERTANI (2), Faouzi MAAZOUZ (3), Rym MEDDEB (3), Lilia KRAOUA (3), Mediha TRABELSI (3), Ridha MRAD (3), Habiba CHAABOUNI (3)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie  
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie  
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** OUERTANI Ines (nannoussa56@yahoo.fr)

Un chromosome marqueur surnuméraire (SMC) est défini comme un chromosome additionnel de structure anormale dont la composition ne peut être déterminée par les techniques de cytogénétique conventionnelle. Les anomalies phénotypiques associées aux MCS varient significativement en raison des origines diverses des marqueurs et de leur constitution variable en euchromatine. Cette variabilité pose un grand dilemme pour le conseil génétique lorsque le MCS est détecté en période prénatale.

Dans ce cadre, nous présentons une étude rétrospective de 6 cas de SMC diagnostiqués en prénatal en exposant la stratégie diagnostique adoptée pour ces SMC et les difficultés du conseil génétique auxquelles on peut être conforté.

Notre étude concerne une série de 6 caryotypes fœtaux faits sur liquide amniotiques avec présence d'un SMC. L'anomalie est en mosaïque chez 3 cas et elle est homogène chez les 3 autres.

Le motif de l'étude du caryotype fœtal était l'âge maternel avancé dans 4/6 cas, un triple test positif dans 1 et des anomalies morphologiques détectées à l'échographie fœtale pour le 6ème cas.

L'étude cytogénétique a montré que 2 SMC dérivent du chromosome 12 (il s'agit d'un iso chromosome 12p réalisant une tétrasomie 12p), 1 SMC dérive du chromosome 15 par inversion duplication (inv dup(15) large incluant la région critique des syndromes de Prader-Willi/Angelman), le 3ème SMC identifié est un iso 18p. Les 2 autres SMC n'ont pas pu être identifiés par les techniques de cytogénétique moléculaire disponibles à notre laboratoire.

Tous les SMC sont de novo et les caryotypes des parents sont tous normaux.

Dans notre série, les SMC identifiés sont les plus décrits et les mieux connus dans la littérature, dans ce cas le phénotype est presque toujours pathologique et le pronostic du fœtus est réservé.

Le conseil génétique est prodigué aux parents qui peuvent choisir d'arrêter la grossesse (2/3cas).

Le 1er SMC non identifié était présent en mosaïque faible (10%) et composé d'hétérochromatine, un suivi échographique rapproché a été indiqué et réalisé. La grossesse a été poursuivie et le fœtus était indemne.

Pour le 2ème SMC non identifié, aucune orientation clinique n'était possible.

Notre étude montre l'importance de la FISH dans la stratégie diagnostique des SMC en prénatal et les difficultés du conseil génétique qui ne peut être prodigué que si l'origine de ces SMC est identifiée.

L'absence d'anomalies échographiques n'est pas toujours un élément rassurant puisque l'indication majeure dans notre série est l'âge maternel avancé, certains signes échographiques peuvent manquer notamment au cours de la tétrasomie 12p.

En conclusion, les SMC diagnostiqués en prénatal posent des problèmes de caractérisation et de conseil génétique, situation dans laquelle on est limité par le facteur temps et les techniques disponibles dans le laboratoire ainsi que la grande variabilité des phénotypes associés aux SMC décrits dans la littérature.

**Mots-clefs** : chromosome marqueur surnuméraire, diagnostic prénatal, conseil génétique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C040/#708

### Que pensent et que savent les 18-44 ans du Saguenay-Lac-Saint-Jean (Québec, Canada) au sujet de la génétique et des maladies héréditaires?

Marie-Ève Blackburn (1), Suzanne Veillette (1), Nadine Arbour (1), Julie Auclair (1), Michel Perron (2)  
1. ÉCOBES Recherche et transfert, Cégep de Jonquière, Jonquière, Canada  
2. Département des sciences humaines, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, Canada

**Auteur correspondant** : Blackburn Marie-Ève (marie-eve.blackburn@cjonquiere.qc.ca)

La prévalence plus élevée de certaines maladies héréditaires (MH) au Saguenay-Lac-Saint-Jean (SLSJ) s'explique par un « effet fondateur » qui repose sur des phénomènes historiques et démographiques bien documentés. Depuis 2011, le ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) du Québec en collaboration avec l'Agence de santé et des services sociaux (ASSS) du SLSJ a mis en place un projet-pilote d'offre de tests de porteur pour quatre maladies héréditaires récessives au SLSJ. Dans le but d'évaluer les retombées sur la population de ce projet-pilote. Une « Enquête populationnelle sur la génétique communautaire et l'offre de tests de porteur pour quatre maladies héréditaires récessives au SLSJ » a été réalisée au printemps 2012. Cette enquête téléphonique a rejoint 1386 répondants âgés de 18-44 ans (population visée par le projet-pilote). Un questionnaire incluant une trentaine de questions portant sur leur connaissance des modes de transmission des MH, de leur acceptabilité à l'égard des tests de porteur, de même que plusieurs questions au sujet de leurs valeurs et leur ouverture à l'égard de la génétique étaient posées.

Les données de cette enquête confirment l'importance stratégique de l'information et de la sensibilisation de la population à propos de la génétique et des tests de porteur. En premier lieu, démontrer de l'intérêt pour le sujet et afficher de meilleurs résultats au test de connaissances influencent non seulement l'intention de recourir aux tests de porteur, mais apaisent aussi différentes inquiétudes que pourraient entretenir les individus sur le sujet. En deuxième lieu, une connaissance accrue sur les MH procure une relative assurance quant à plusieurs aspects liés aux tests génétiques, notamment la crainte de préjudices pour les gens qui donneraient naissance à des enfants atteints ou encore redouter de se sentir en moins bonne santé si déclaré porteur. En troisième lieu, on observe combien la connaissance et l'intérêt pour les MH se trouvent étroitement associés à l'âge et au genre des répondants, de même qu'à leur niveau de scolarité. Ainsi, ce sont les jeunes, les femmes et les plus scolarisés qui s'avèrent les plus informés et les plus ouverts ou disposés au sujet de la génétique et des tests de porteur. Dans le contexte d'une analyse multiple mettant en présence plusieurs caractéristiques, on constate que le sexe des répondants n'apparaît plus associé à la performance au test de connaissances sur les modes de transmission des MH. C'est plutôt l'importance de la scolarité qui se trouve davantage mise en lumière. Ainsi, plus les gens sont scolarisés, meilleure est leur performance au test de connaissances. Viennent ensuite l'âge, de même que le fait de déclarer avoir passé des tests de porteur ou encore d'avoir au moins un de ses grands-parents originaire de la région qui permettent d'anticiper la plus ou moins bonne performance au test.

**Mots-clefs** : Connaissances en génétique, Population, Tests de porteur

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C041/#757

### INTERET DU CONSEIL GENETIQUE DANS LE SYNDROME DE BARDET BIEDL

laila bouguenouch (1), imane samri (2), khadija belhassan (1), karimouldim (1)  
1. UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET D ONCOGENETIQUE, CHU FES, FES, Maroc  
2. genetique medicale, chu fes, fes, Maroc

**Auteur correspondant** : bouguenouch laila (lbouguenouch@yahoo.com)

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) est une ciliopathie autosomique récessive rare caractérisée par une dystrophie rétinienne, une obésité, une polydactylie post-axiale, des manifestations rénales, des difficultés d'apprentissage et hypogonadisme. Beaucoup d'autres signes mineurs associés peuvent être utiles pour établir le diagnostic et jouent un rôle important dans la gestion clinique des BBS.

Le diagnostic repose sur la clinique et peut être confirmé par séquençage de gènes connus chez 80% des patients. Ces gènes codent pour des protéines BBS impliquées dans la biogenèse et la fonction des cils.

Nous rapportons l'observation de 2 familles. Deux garçons dans la première famille et un garçon et une fille dans la deuxième. Nos patients sont issus d'un mariage consanguin. Ils présentent tous une obésité tronculaire, une polydactylie post-axiale, des troubles cognitifs et hypogonadisme chez les garçons. Deux d'entre eux sont suivis pour diabète. L'examen ophtalmologique a mis en évidence une rétinopathie pigmentaire chez 2 patients et une atrophie chorio-rétinienne chez deux autres. Avec ces résultats cliniques typiques, le diagnostic de BBS a été posé.

L'étude moléculaire est en cours.

Le mariage consanguin peut augmenter le risque d'apparition de

**Mots-clefs** : syndrome de Bardet-Biedl, autosomique récessive, conseil génétique

## Conseil génétique, éthique et aspects psychologiques

C042/#797

### L'importance des qualités relationnelles dans la consultation de conseil génétique

Nicole PIQUION (1)

1. Service d'Immuno virologie génétique, CHU Martinique, Fort de France, France

**Auteur correspondant :** PIQUION Nicole (nicole.piquion@gmail.com)

La consultation de conseil génétique nécessite des compétences scientifiques de haut niveau maintenue par une formation continue de qualité dans un secteur en évolution permanente. Toutefois, celles-ci ne prendront sens et ne seront mises à profit que si elles intègrent, dans une approche globale qui vaut tant pour le consultant que pour le patient et sa famille, des qualités relationnelles où les dimensions émotionnelle, psychologique, sociale, historique, ethnologique, géographique, psychogénéalogique et spirituelle qui impliquent une connaissance effective et développée de l'anthropologie

Ainsi elle requiert de la part du praticien un sens de l'écoute allant effectivement à la rencontre de l'autre, une réelle capacité d'empathie, une attention pour l'autre, une compassion sincère et authentique ainsi qu'une grande ouverture d'esprit et une réelle disponibilité éprouvées au prix d'une solide formation et d'un accompagnement personnalisé ayant conscience de ses limites.

Le médecin ou conseiller génétique ne doit dans sa démarche, ni imposer ses convictions personnelles, ni celles de la société. Sa présence est requise pour aider le patient à prendre la décision qui lui convient le mieux, au moment concerné, sur la base des informations les plus précises qui pourront lui être transmises en tenant compte de l'état actuel de la science. C'est dans ces conditions seules que l'ont peut parler d'information et consentement éclairé permettant de respecter pleinement la liberté et la dignité des individus reconnaissant leur droit légitime à être un acteur effectif de leur vie en évitant les positionnements de principe autant que les approches faussement compassionnelles.

Le facteur temps est indispensable pour recueillir les informations provenant du patient et de sa famille, fournir et expliciter de façon adaptée les informations qu'il est en mesure de recevoir, favoriser la réflexion, l'émergence de questions, l'échange et le partage authentiques, en créant un espace de liberté. L'importance d'une écoute de qualité allant à la rencontre de l'autre en absence de jugement et d'a priori est donc essentielle.

L'introduction de documents écrits et signés par les patients permet d'homogénéiser la pratique en laissant la place à la personnalisation et l'adaptation indispensable au travers de l'échange verbal et non verbal, tout en constituant un élément de traçabilité à ce jour indispensable en termes de responsabilité juridique Cette pratique est parfaitement acceptée dès lors que les documents sont commentés et explicités et que l'on s'assure de l'intégration de leur contenu En revanche il y a lieu d'éviter « l'information simulacre procédurale » Il s'agit de réhabiliter pleinement le patient dans une approche respectueuse de sa personne et de sa dignité en l'associant en partenaire de plein droit à la gestion de sa propre santé dans une démarche pleinement éthique.

**Mots-clés :** Conseil génétique, Consultation, éthique

## Innovations technologiques

C043/#60

### Recherche de mutations responsables d'hypogonadisme hypogonadotrope syndromique et non syndromique par séquençage PGM en routine hospitalière

Audrey BRIAND (1), Catherine DODE (1), Corinne FOUVEAUT (1), Jean-Pierre HARDELIN (2), Chrystel LEROY (1), Séverine MARCOS (3), Béatrice PARFAIT (1), Eric PASMANT (1), Dominique VIDAUD (1), Michel VIDAUD (1)

1. biochimie et génétique moléculaire, Hôpital COCHIN, Paris, France

2. département des neurosciences, Institut Pasteur, Paris, France

3. Inserm UMR\_745, Université Paris-Descartes, Paris, France

**Auteur correspondant :** DODE Catherine (catherine.dode@inserm.fr)

L'hypogonadisme hypogonadotrope (HH) est dû dans la plupart des cas à un déficit congénital en GnRH, l'hormone hypothalamique déclenchant la puberté. Ce déficit peut être non syndromique ou syndromique, et chacune de ces formes est génétiquement hétérogène. Les mutations responsables d'HH non syndromique sont situées dans les gènes de la GnRH (GNRH1) ou de son récepteur (GNRHR), ou dans des gènes codant pour d'autres couples ligand/récepteur (KISS1, KISS1R, TAC3, TACR3), qui contrôlent la sécrétion de l'hormone. Les HH syndromiques correspondent principalement au syndrome de Kallmann, dans lequel le signe clinique associé à l'HH est un déficit olfactif, total (anosmie) ou partiel (hyposmie), le plus souvent accompagné de l'aplasie des bulbes olfactifs. Ce syndrome résulte d'un défaut de migration des neurones produisant la GnRH au cours de l'embryogénèse, suite à un défaut de développement du système olfactif périphérique. D'autres signes cliniques peuvent être associés, selon la nature du gène impliqué: agénésie rénale, fente labiale et/ou palatine, mouvements en miroir, surdité, colobome de l'iris... 10 gènes responsables ont déjà été identifiés, KAL1, FGFR1, FGF8, PROKR2, PROK2, CHD7, SOX10, SEMA3A, HS6ST1, WDR11, mais seuls 30% des malades atteints du syndrome de Kallmann sont porteurs de mutations dans l'un de ces gènes. Différents modes de transmission de ce syndrome sont associés aux mutations de ces gènes : récessif lié au chromosome X (KAL1), autosomique dominant (FGFR1, SOX10), autosomique récessif (PROK2, PROKR2), et oligogénique.

La technique classique de séquençage de Sanger n'est pas adaptée à la recherche de mutations dans les 16 gènes responsables d'HH syndromique et non syndromique. C'est pourquoi nous avons mis au point la technique de séquençage NGS des exons codants et régions adjacentes de l'ensemble des ces gènes sur séquenceur Ion Torrent (Life technologies). Les amorces ont été choisies à l'aide du logiciel Ampliseq designer. La taille des amplicons varie de 125bp à 225bp représentant 59,9 kb de régions séquencées. La couverture théorique est de 96,12%. Deux PCR multiplex permettent d'amplifier l'ensemble des exons pour chaque malade. Cinq exons ne sont pas amplifiés ou mal couverts, et doivent être séquencés séparément par la méthode de Sanger. 24 malades peuvent être analysés ensemble sur une puce 316. Les couvertures obtenues sont supérieures à 50X en moyenne, avec des écarts allant de 10 à 300X. Les résultats sont interprétés à l'aide des logiciels variant caller, nextgene et integrative genome viewer. Plus de 200 patients ont été analysés par cette technique, et les résultats obtenus seront présentés. Cette méthode de séquençage étant quantitative, il est en principe possible d'identifier des insertions/délétions d'un ou plusieurs exons à l'état hétérozygote, une application que nous sommes en train de mettre au point, en validant les résultats obtenus par PCR quantitative.

**Mots-clés :** hypogonadisme, NGS, séquençage ciblé



## Innovations technologiques

C044/#77

### La Base de Données Internationale pour les Dysferlinopathies : inscription en ligne à l'initiative du patient et participation de son médecin.

Gaëlle Blandin (1), Laura Rufibach (2), Brigitta von Rekowski (3), Christophe Bérout (4), Martin Krahn (4)

1. GMGF UMR\_S 910, Faculté de Médecine Timone, Aix Marseille Université & Inserm, Marseille, France
2. Jain Foundation, Jain Foundation, Seattle, USA
3. Institute of Genetic Medicine, International Centre for Life, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, Royaume-Uni
4. GMGF UMR\_S 910, Faculté de Médecine Timone & Département de Génétique Médicale, Aix Marseille Université, Inserm & APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Blandin Gaëlle (gaelle.blandin@univ-amu.fr)

La Base de Données Internationale pour les Dysferlinopathies, lancée en mars 2013, est disponible en sept langues pour les patients du monde entier diagnostiqués avec une dysferlinopathie : dystrophies musculaires des ceintures de type 2B (LGMD2B), myopathie de Miyoshi ou toute autre présentation clinique liée à des mutations dans le gène dysferline.

Pour initier son inscription, le patient valide son consentement en ligne sur [www.dysferlinregistry.org](http://www.dysferlinregistry.org), fournit ses coordonnées ainsi que celles des médecins impliqués dans le diagnostic et le suivi de sa maladie. Pendant que le curateur de la Base de Données contacte ses médecins pour obtenir certaines données génétiques et biologiques, le patient est invité à se connecter sur son compte personnel pour compléter de façon sécurisée son questionnaire médical. L'inscription du patient est confirmée après qu'il ait validé son questionnaire médical et après que le curateur ait confirmé son éligibilité (au moins une mutation pathogène identifiée dans le gène DYSF).

Chaque patient inscrit sera informé sur l'identification de meilleurs protocoles de prise en charge, ou s'il est éligible pour un nouvel essai clinique ou une étude de recherche (comme l'Etude Internationale sur l'Evolution Clinique des Dysferlinopathies). Les données collectées permettront de mieux comprendre les dysferlinopathies et les défauts génétiques à leur origine, d'améliorer les diagnostics et de soutenir toute activité visant à améliorer la prise en charge des patients comme l'évaluation et la dissémination des protocoles de soin. Les tiers autorisés pourront avoir accès aux données médicales anonymisées pour les utiliser dans le cadre de leurs recherches ou aider au recrutement de patients.

Pour faciliter les recherches sur les maladies rares, la Base de Données Internationale pour les Dysferlinopathies collabore avec le projet européen RD-Connect pour implémenter un «identifiant patient unique» ainsi que des ontologies et des systèmes de codage standardisés.

**Mots-clefs :** Registre international, base de données, dysferlinopathie, LGMD

## Innovations technologiques

C045/#78

### Développement d'un système informatique dédié pour l'Observatoire national français des patients atteints de Dystrophie Musculaire Facio-Scapulo-Humérale

Céline GUIEN (1), Pauline LAHAUT (2), Katia NEHAL (3), Rafaëlle BERNARD (3), Sabrina SACCONI (2), Christophe BEROUD (4), Gaëlle BLANDIN (1)

1. GMGF UMR\_S 910, Aix-Marseille Université, INSERM, Marseille, France
2. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires, CHU de Nice, Nice, France
3. Département de Génétique Médicale et de Biologie Cellulaire, APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
4. GMGF UMR\_S 910 et Département de Génétique Médicale et de Biologie Cellulaire, Aix-Marseille Université, INSERM et APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** BEROUD Christophe (christophe.beroud@inserm.fr)

La Dystrophie Musculaire Facio-Scapulo-Humérale (DMFSH) est la dystrophie musculaire la plus fréquente (7 cas pour 100 000 naissances). Bien que le ou les gènes responsables de cette maladie génétique ne soient pas encore identifiés, la recherche est très active et un test génétique est disponible.

Un consortium regroupant le CHU de Nice, l'APHM de Marseille, l'Université d'Aix-Marseille et l'INSERM - UMR\_S910 et l'AFM a décidé de créer l'observatoire national français de la DMFSH. Il a pour buts de :

- Collecter et centraliser des données génétiques et cliniques sur la DMFSH.
- Aider la recherche clinique et génétique sur cette maladie.
- Aider les chercheurs à mettre au point de nouveaux traitements.
- Accélérer et faciliter le recrutement des patients dans les essais cliniques et thérapeutiques.
- Informer les patients et leur famille.
- Développer des recommandations et harmoniser la prise en charge des personnes atteintes.

Ce projet a reçu les avis favorables du CCTIRS (avis 12.004bis) et de la CNIL (déclarations n°912291). Il est opérationnel depuis juillet 2013 et est accessible via Internet ([www.fshd.fr](http://www.fshd.fr)).

L'observatoire est développé sur un mode mixte, c'est-à-dire que les patients et les professionnels de santé participent conjointement à la collecte des données. Il s'agit de l'une des premières bases de données Françaises dédiées aux maladies neuromusculaires fonctionnant sur ce mode original.

Les données cliniques et moléculaires sont recueillies via une fiche d'évaluation clinique remplie par le médecin d'une part, et un auto-questionnaire rempli par le patient d'autre part. Le curateur clinique (CHUN) reçoit les fiches cliniques et les auto-questionnaires, vérifie l'éligibilité du patient, saisit et valide les questionnaires dans l'Observatoire. Le curateur moléculaire (APHM) vérifie les données génétiques et les valide. Le patient et son médecin visualisent les questionnaires en se connectant sur le site web avec le code PIN affecté au patient.

Le système informatique développé permet aux curateurs de saisir et valider les questionnaires de façon sécurisée directement via le site web, facilite la gestion des fiches patient et leur suivi multicentrique par les différents curateurs tout en soumettant les données à un contrôle qualité systématique. L'interface web permet aux curateurs d'informer chaque patient individuellement, en particulier sur l'identification de meilleurs protocoles de prise en charge, ou sur son éligibilité à un nouvel essai clinique ou une étude de recherche. La souplesse du système offre différentes possibilités en terme de développement de modules d'analyses statistiques et graphiques et d'élargissement de l'Observatoire vers d'autres langues.

Ce projet s'inscrit dans un contexte international, il permettra de mieux comprendre les DMFSH et les défauts génétiques à leur origine, d'améliorer le diagnostic et de soutenir toute activité visant à améliorer la prise en charge des patients.  
(Coordonnateur: S. SACCONI)

**Mots-clefs :** DMFSH, Observatoire, Base de données

## Innovations technologiques

C046/#158

---

### EVA version 3 ou comment annoter, filtrer et analyser vos exomes en quelques clics

Juliette AURY-LANDAS (1), Sophie COUTANT (2), Cyril POTTIER (1), Gaël NICOLAS (3), Pierre-Julien VIAILLY (4), Jean-François VO (5), Thierry FREBOURG (6), Hélène DAUCHEL (5), Dominique CAMPION (1)

1. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, CNR-MAJ, CHU de Rouen, Lille et Paris-Salpêtrière, Rouen, France

2. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Département de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France

3. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, CNR-MAJ, CHU de Rouen, Lille et Paris-Salpêtrière, Département de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France

4. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, CNR-MAJ, CHU de Rouen, Lille et Paris-Salpêtrière, LITIS EA 4108, Rouen, France

5. LITIS EA 4108, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Rouen, France

6. Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Département de Génétique, CHU de Rouen, Cancéropôle Nord-Ouest, Rouen, France

**Auteur correspondant :** AURY-LANDAS Juliette  
(juliette.aury.landas@wanadoo.fr)

exportables et compatibles avec une analyse statistique des données. EVA est un outil fonctionnel, efficace, en constante évolution, convivial et gratuit, dédié aux généticiens, qui permet d'annoter, filtrer et analyser des exomes de façon simple, personnalisable et rapide. Son utilisation a déjà contribué à l'identification de gènes impliqués dans les maladies Mendéliennes.

**Mots-clefs :** exome, outil bioinformatique, variant

Le séquençage d'exome est une révolution dans le domaine de la génétique humaine et a déjà permis l'identification de variants à l'origine du déterminisme génétique de plusieurs maladies Mendéliennes. Le défi actuel est de mettre en place des outils bioinformatiques conviviaux, à l'usage des généticiens, permettant des stratégies d'analyse et de filtration efficaces et rapides des milliers de variants observés par séquençage de chaque exome. L'outil EVA (Exome Variation Analyzer), développé depuis 2010 en collaboration avec des biologistes et des généticiens cliniques, est une base de données associée à une interface web qui permet une analyse simple, efficace et rapide des données de séquençage d'exome à partir des fichiers de variant calling générés par GATK, SamTools et CASAVA. L'analyse est réalisée en 3 étapes: i) annotation des variants via ANNOVAR et stockage dans la base de données, ii) filtration des variants selon des critères et des seuils paramétrables par l'utilisateur, tels que leur présence et leur fréquence de l'allèle mineur dans les banques de données publiques (dbSNP, 1000Genomes ou ESP), leur type (SNV ou indel), leur effet fonctionnel (synonyme, faux-sens, non-sens, perte du codon stop, site d'épissage, décalage ou non du cadre de lecture), leur qualité (profondeur de lecture, score du variant, balance allélique), la prédiction de leur pathogénicité (SIFT, PolyPhen2, LRT, MutationTaster, MutationAssessor, FATHMM), leur score de conservation (GERP++, PhyloP, SiPhy) ou leur appartenance à une liste de gènes d'intérêt définie par l'utilisateur et iii) identification de gènes candidats basée sur des stratégies d'analyse comparative (ex: études de récurrence inter-familiale ou intra-familiale) ou soustractive (ex: recherche de mutations de novo ou de mutations somatiques) d'exomes. La recherche d'informations précises sur les gènes candidats est facilitée par des liens croisés vers différentes banques de données publiques ou outils tel que Alamut. Les résultats d'analyse sont exportables pour une analyse statistique ultérieure et la publication des données. Les principales nouveautés apportées par la version 3 d'EVA sont i) un système d'intégration des variants associé à leur annotation sur tous les transcrits des gènes, y compris les transcrits non canoniques et les gènes ne codant pas pour des protéines (ex: miRNA) ii) des filtres basés sur la prédiction de la pathogénicité, le score de conservation des variants, leur qualité (profondeur, score, balance allélique) et sur des listes de gènes d'intérêt créées par l'utilisateur et iii) des fichiers de résultats

## Innovations technologiques

C047/#163

### Diagnostic moléculaire rapide des cardiomyopathies via une stratégie couplant bibliothèques AmpliSeq (LifeTechnologies)/Séquençage Ion PGM/Analyse NextGENe

Valérie CHANAVAT (1), Gilles MILLAT (1), Robert ROUSSON (1)  
1. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, CHU Lyon, BRON Cedex, France

**Auteur correspondant :** MILLAT Gilles (gilles.millat@chu-lyon.fr)

Les cardiomyopathies héréditaires sont des atteintes primitives dans lesquelles le muscle cardiaque est structurellement et fonctionnellement anormal en l'absence de toute autre cause de cardiomyopathie. Les plus fréquemment retrouvées sont les cardiomyopathies hypertrophiques (CMH) et dilatées (CMD). L'exploration moléculaire de ces pathologies est complexe car ces pathologies se caractérisent par une forte hétérogénéité génétique, génique et allélique. A ce jour, l'exploration des patients porteurs de CMH ou de CMD se limitait à l'analyse des séquences codantes des gènes les plus prévalents par des méthodologies couplant analyses HRM et séquençage Sanger. L'émergence du séquençage haut-débit permet de d'envisager des stratégies plus ambitieuses visant à explorer, de façon plus rapide et moins coûteuse, un plus grand nombre de gènes.

Une cohorte de 30 patients porteurs de CMH ou de CMD préalablement explorés par HRM/séquençage Sanger a été ré-analysée par séquençage NGS sur le séquenceur Ion PGM (LifeTechnologies). Un panel restreint (MYH7, MYBPC3, MYL2, LMNA, TNNT2, TNNI3, TPM1, et SCN5A) a été testé via une préparation de bibliothèques basées sur la stratégie AmpliSeq (LifeTechnologies). Deux runs indépendants de séquençage (multiplexage de 15 patients) ont été effectués sur une puce Ion-316. L'analyse des régions couvertes et l'identification des différents variants ont été effectuées à l'aide du logiciel NextGENe 2.3.3.

Les résultats obtenus montrent que le design réalisé permet de couvrir parfaitement 93% (145/156) des exons ciblés (et leurs bordures introniques) avec une profondeur minimale supérieure à 30X (profondeur moyenne: 400X). L'utilisation des paramètres d'alignement par défaut du logiciel NextGENe a permis de détecter 93,7% (59/63) des variations précédemment identifiées: l'intégralité des substitutions (48/48) a été aisément mise en évidence, mais 4 des 15 indels attendus n'ont pas pu être détectés. Une modification des paramètres d'alignement du logiciel NextGENe a permis de mettre en évidence ces 4 indels mais a fortement réduit la spécificité de l'analyse. Les indels difficilement détectés étaient des duplications d'une base présentes au sein de stretches nucléotidiques.

En résumé, cette stratégie d'exploration moléculaire basée sur l'utilisation d'un panel AmpliSeq restreint et d'une analyse in silico avec le logiciel NextGENe permet d'explorer de façon rapide (env. 4 jours) et à un coût raisonnable (env. 130 € HT/patient) 15 patients simultanément pour les 8 gènes les plus fréquemment impliqués dans les cardiomyopathies. Les régions non-couvertes sont actuellement étudiées par analyses HRM et séquençage Sanger. Une étude, toujours axée sur la technologie AmpliSeq, est actuellement en cours afin d'améliorer la couverture des gènes inclus dans ce panel, mais également d'augmenter significativement le nombre de gènes explorés, tout en conservant le plus possible ce coût d'analyse et ce délai de rendu du résultat.

**Mots-clefs :** Cardiomyopathies, NGS, Diagnostic moléculaire

## Innovations technologiques

C048/#172

### Diagnostic moléculaire des Cardiomyopathies via l'utilisation d'un panel custom SeqCapEZ (Roche NimbleGen) de 43 gènes

Valérie CHANAVAT (1), Gilles MILLAT (1), Robert ROUSSON (1)  
1. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, CHU Lyon, BRON Cedex, France

**Auteur correspondant :** MILLAT Gilles (gilles.millat@chu-lyon.fr)

Les cardiomyopathies héréditaires sont des atteintes primitives dans lesquelles le muscle cardiaque est structurellement et fonctionnellement anormal en l'absence de toute autre cause de cardiomyopathie; les plus fréquemment retrouvées étant les cardiomyopathies hypertrophiques (CMH) et dilatées (CMD). L'exploration moléculaire de ces pathologies est complexe car ces pathologies se caractérisent par une forte hétérogénéité génétique, génique et allélique. A ce jour, l'exploration des patients porteurs de CMH ou de CMD se limitait à l'analyse des séquences codantes des gènes les plus prévalents par des méthodologies couplant analyses HRM et séquençage Sanger. L'émergence du séquençage haut-débit permet des stratégies plus ambitieuses en explorant, de façon plus rapide et moins coûteuse, un plus grand nombre de gènes.

Une série de 7 patients porteurs de CMH ou de CMD, préalablement négatifs lors d'une précédente exploration par HRM/séquençage, a été ré-analysée en utilisant la stratégie SeqCap EZ (Roche NimbleGen) par séquençage sur Ion PGM Sequencer (LifeTechnologies) à l'aide d'une puce Ion-318 (multiplexage des 7 patients). Pour cela, un panel custom contenant les séquences codantes et les bordures introniques de 43 gènes (ABCC9, ACTC1, ACTN2, ANKRD1, BAG3, CALR3, CAV3, CSR3, DES, DSG2, DTNA, EYA4, FKTN, GLA, JPH2, LAMP2, LDB3, LMNA, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MYOZ2, NEXN, PLN, PSEN1, PSEN2, PRKAG2, RBM20, SCN5A, SGCD, SLC25A4, TAZ, TCAP, TMPO, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN et VCL) a été designé. L'analyse tertiaire et quaternaire des régions couvertes et l'identification des différents variants ont été effectuées en utilisant le logiciel NextGENe 2.3.3.

Les résultats obtenus montrent que le design réalisé permet de couvrir parfaitement 96,3% (838/870) des régions ciblées avec une profondeur minimale pour chaque nucléotide supérieure à 30X (profondeur moyenne : 320X). L'utilisation des paramètres d'alignement par défaut du logiciel NextGENe 2.3.3 a permis de détecter tous les SNPs précédemment identifiés mais également plusieurs nouveaux variants de signification inconnue et 2 mutations potentiellement pathogènes chez des patients présentant une CMD : la mutation p.Arg636Cys (NM\_001134363:c.1906C>T) sur le gène RBM20 et la mutation p.Leu13040fs (NM\_001256850:c.16842delA) sur le gène TTN.

Bien que très satisfaisant au niveau des résultats obtenus, l'utilisation en routine diagnostic de ce panel nécessitera cependant une phase d'automatisation en raison du grand nombre d'étapes manuelles à réaliser. Une étude est actuellement en cours afin d'améliorer la couverture des gènes d'intérêt retenu dans ce panel. Ce dernier permettra à travers l'identification de nouveaux variants génomiques, de mieux définir les corrélations phénotype/génotype mais également de mieux appréhender la pénétrance variable observée au sein d'une même famille en objectivant la présence de variants modulant l'expression de la mutation causale.

**Mots-clefs :** Cardiomyopathies, NGS, Diagnostic moléculaire

## Innovations technologiques

C049/#225

### Utilisation de la trousse AmplideX®FMR1 au CHU de Poitiers, bilan de 2 ans d'activité.

Valérie Lepine (2), Alexandre Marie (3), Anne Tailhades (3), Alain Kitzis (1), Sylvie Patri (1)

1. Equipe Génétique des maladies rares, Université, Poitiers, France
2. Service de Génétique, CHU, Poitiers, France
3. THERADIAG, Croissy Beaubourg, Marne la Vallée, France

**Auteur correspondant :** PATRI Sylvie (sylvie.patri3@gmail.com)

Le gène FMR1 est situé sur le chromosome X et possède dans sa région 5' non codante une région polymorphe en répétition de triplets CGG. Différentes classes d'allèle ont été définies selon le nombre de répétitions. A l'état normal, on compte un nombre de répétitions inférieur à 50, le plus souvent situé à 29 ou 30 CGG. La prémutation du gène se caractérise par un nombre de répétitions compris entre 50 et 200 et peut être à l'origine d'une insuffisance ovarienne précoce chez les femmes (FXPOI) ou un syndrome de tremblement et d'ataxie (FXTAS). La mutation complète, caractéristique du syndrome de l'X fragile, correspond à un nombre de CGG supérieur à 200. L'évolution de prémutation à mutation se déroule au cours de la gamétogenèse féminine. Les répétitions CGG sont généralement interrompues par des triplets AGG qui stabilisent la région. La détection de ces triplets AGG se révèle donc importante pour le conseil génétique.

Jusqu'en 2011, une PCR classique nous permettait de réaliser un diagnostic des anomalies d'amplification des CGG avec toutefois deux inconvénients majeurs : impossibilité de détecter les mutations de plus de 70 triplets et impossibilité d'affirmer le caractère homozygote normal d'une femme présentant une seule bande d'amplification (30% des femmes). Ainsi, 10% des prélèvements reçus au laboratoire devaient être analysés par Southern Blot.

Depuis 2011, nous avons mis en place le test AmplideX®FMR1 (Theradiag, France) basé sur une PCR innovante suivie d'une électrophorèse capillaire. Cette PCR intègre trois amorces (dont une ancrée sur 5 CGG) permettant de visualiser les interruptions AGG et de détecter toutes les tailles d'expansions, y compris les plus grandes, ainsi que les mosaïques.

Dans le cadre de l'utilisation de cette trousse nous proposons un protocole d'aliquotage des mix de PCR. Nous préparons un mix de PCR pour 48 tests que nous répartissons dans des microtubes qui seront décongelés en fonction des besoins. Ce protocole est contrôlé à la première utilisation ainsi qu'à la première décongélation par l'amplification d'un ADN connu (mutation complète ou mosaïque).

L'utilisation en routine du test AmplideX®FMR1 nous permet de rendre des résultats plus fiables en termes de sensibilité (analytique, 1%) et de précision du nombre de triplets (+/- 1 CGG) à partir de quantités réduites d'ADN (20-80 ng) par rapport à la quantité nécessaire au Southern Blot. Grâce à cet outil les manipulations et l'analyse des résultats ont été simplifiés :

- visualisation intuitive des profils et des interruptions AGG,
- calcul automatisé du nombre de répétitions CGG.

Depuis 2011 environ 400 diagnostics ont été réalisés grâce au test AmplideX®FMR1 réduisant le taux de southern-blot nécessaire pour l'obtention d'un résultat définitif, de 10% à moins de 0,5%.

**Mots-clefs :** X-fragile, FMR1, trousse

## Innovations technologiques

C050/#226

### Human Splicing Finder 3.0 : un système d'identification des signaux d'épissage et de prédiction de l'impact des mutations sur ces signaux

Ghadi RAI (1), David SALGADO (1), Arnaud BLANCHARD (1), Gaëlle BLANDIN (1), Jean-Pierre DESVIGNES (1), Céline GUIEN (1), Morgane MILTGEN (1), Amélie PINARD (1), Laura BARRE (1), Sylviane OLSCHWANG (1), Gwenaëlle COLLOD-BEROUD (1), Christophe BEROUD (1)

1. UMR\_S910 GMGF, Aix Marseille Université, Marseille, France

**Auteur correspondant :** RAI Ghadi (ghadi.raï@univ-amu.fr)

Avec l'aboutissement du Projet de Séquençage du Génome Humain, notre vision des maladies génétiques humaines a changé. Chaque année, des milliers de mutations sont identifiées dans le cadre d'analyses diagnostiques et/ou de recherche. Bien que beaucoup d'entre elles affectent directement la séquence des protéines, il est aujourd'hui reconnu qu'une grande proportion a en fait un impact sur l'épissage de l'ARN pré-messager. Si les sites donneurs et accepteurs d'épissage sont la plupart du temps affectés, certaines mutations peuvent également créer des sites cryptiques d'épissage, altérer le point de branchement ou des séquences auxiliaires d'épissage.

Le système Human Splicing Finder (HSF) permet d'identifier les motifs sauvages d'épissage (sites donneurs, accepteurs et point de branchement) et de prédire la présence de séquences auxiliaires d'épissage (Exonic Splicing Enhancer-ESE et Exonic Splicing Silencer-ESS) de n'importe quel transcrit du génome humain. Parallèlement, il permet de prédire les effets d'une mutation sur ces signaux.

HSF a été conçu comme un "système unique intégré" d'informations relatives aux signaux d'épissage. Pour cela, douze algorithmes ont été conçus et/ou implémentés et permettent d'analyser les trois types de signaux : sites donneurs et accepteurs d'épissage, points de branchement et séquences auxiliaires d'épissage.

Si le système HSF est rapidement devenu une référence internationale, la complexité des informations fournies nécessitait une expertise pour leur bonne interprétation. Afin de les rendre accessibles au plus grand nombre, notamment dans le cadre du diagnostic, nous avons créé un système d'aide à l'interprétation. Cet algorithme, en fonction de la position de la mutation (intronique ou exonique, localisée ou non dans les sites sauvages d'épissage ou le point de branchement), filtre les données brutes obtenues, ne retient que les plus pertinentes et en affiche la synthèse.

Nous avons également développé un algorithme de prédiction des sites donneurs des introns GC-AG basé sur une matrice poids/position et testé avec un jeu de 50 mutations issues de la littérature.

Afin de faciliter l'interopérabilité d'HSF, un webservice a été créé afin de permettre un accès rapide aux résultats, sans passer par l'interface graphique. Il peut ainsi être intégré à n'importe quel pipeline d'analyse et retourne les résultats du système d'aide à l'interprétation.

Enfin, HSF v3.0 bénéficie d'une nouvelle interface web qui intègre les dernières évolutions graphiques (graphes dynamiques, options de zoom, etc.) et d'une mise à jour de son contenu (dernières versions d'Ensembl et de HGNC).

La nouvelle version d'HSF v3.0 est ainsi un véritable système d'aide à l'interprétation des mutations affectant les signaux d'épissage. Il est utilisable non seulement pour le diagnostic ciblé mais également pour le NGS via son intégration à des pipelines d'analyse.

**Mots-clefs :** Prédiction des signaux d'épissage, Human Splicing Finder, HSF, Bioinformatique



## Innovations technologiques

C051/#237

### Quelle terminologie utiliser pour décrire les phénomènes ? Un enjeu majeur pour l'informatisation des données cliniques et leur exploitation en recherche

Ségolène Aymé (1), Laetitia Chanas (1), Ana Rath (1)  
1. INSERM US14, Plateforme Maladies Rares, Paris, France

**Auteur correspondant :** Aymé Ségolène (segolene.ayme@inserm.fr)

La communauté des cliniciens concernés par les maladies génétiques utilise actuellement plusieurs terminologies publiques, mais aussi des terminologies privées qui rendent impossible l'exploitation conjointe des données, même si chaque terminologie est généralement bien adaptée à un usage précis. Devant la multitude des besoins et des applications possibles, il n'est pas raisonnable d'espérer un consensus sur une terminologie générale unique, cependant on peut arriver à un accord sur un ensemble de descripteurs principaux qui pourraient être adoptés par toutes les terminologies, chacune d'entre elles y ajoutant ses propres extensions. Pour y parvenir nous avons réuni les représentants de PhenoDB (OMIM), Human Phenome Ontology (HPO), Elements of Morphology, CIM10 (OMS), SNOMED CT, LDDDB et Orphanet. Un accord a été trouvé sur la stratégie d'identification d'un ensemble de 2000 termes. Ces terminologies ont été comparées deux à deux pour identifier les termes communs, sachant que PhenoDB contient 2846 termes, LDDDB contient 1318 termes, la CIM10 contient 1230 termes, HPO contient 9895 termes et Orphanet 1243 termes. Les 2700 termes utilisés dans au moins deux terminologies ont été gardés et classés par systèmes anatomiques et fonctionnels. Cet ensemble a été comparé aux statistiques d'usage de ces termes dans chacune des terminologies pour indexer soit les maladies soit les malades. Le groupe des représentants des différentes terminologies s'est réuni à nouveau pour expertiser les termes candidats à une nomenclature unique en octobre 2013. La proposition finale consensuelle sera présentée ainsi que les recommandations pour son usage dans les dossiers patients, les bases de données, registres et cohortes. Orphanet s'est d'ores et déjà engagé à faire converger sa terminologie des signes et symptômes servant à l'aide au diagnostic vers celle de HPO.

**Mots-clefs :** Nomenclature, Phénomène, Informatisation

## Innovations technologiques

C052/#238

### L'ontologie des maladies rares : un outil intégrant des données cliniques et génétiques à l'usage des chercheurs.

Ana Maria Rath (1), Annie Olry (1), Catherine Gonthier (1), Laetitia Chanas (1), Helen Parkinson (2), Drashti Vasant (2), Marc Hanauer (1), Bruno Urbero (1), Ségolène Aymé (1)  
1. Orphanet, INSERM US 14, Paris, France  
2. Samples, Phenotypes and Ontologies, EMBL-European Bioinformatics Institute, Hinxton, Royaume-Uni

**Auteur correspondant :** Rath Ana Maria (ana.rath@inserm.fr)

La complexité croissante des données génétiques et la dispersion des données phénotypiques dans les bases de données cliniques, ainsi que la multiplicité des terminologies scientifiques et médicales, imposent le besoin de disposer d'outils de référence intégrant et normalisant ces données pour leur utilisation par les systèmes d'information en santé et en recherche. Orphanet maintient, depuis 1997, une base de données multilingue consacrée aux maladies rares réalisée à partir de la littérature et validée par des experts internationaux, intégrant leur nosologie (classification des maladies rares), leurs relations (relations gènes-maladies, données épidémiologiques, médicaments orphelins) et les correspondances avec d'autres terminologies (MeSH, SNOMED CT, UMLS), bases de données (OMIM) ou classifications (ICD10) en usage (interopérabilité). Les gènes, loci ou ARN non codants liés aux maladies sont à leur tour connectés à d'autres bases de données scientifiques (HGNC, OMIM, UniProt, GenAtlas, Reactome, ensemble, IUPHAR). Ces données sont déjà disponibles pour le téléchargement massif sur la plateforme de téléchargement en libre accès Orphadata ([www.orphadata.org](http://www.orphadata.org)). Cependant, il était nécessaire de mettre à disposition des bioinformaticiens et des chercheurs l'ensemble des relations entre ces différentes données dans un format intelligible par les machines et intégrable à d'autres environnements informatiques. Une collaboration avec l'European Bioinformatics Institute (EBI, Hinxton, Royaume-Uni) a été établie de manière à produire l'Ontologie des maladies rares, offrant une modélisation robuste et cohérente des données et de leurs relations significatives, ainsi que l'interopérabilité avec d'autres ressources utilisées par des bases de données génétiques. Elle contient notamment des relations sémantiques entre les gènes et les maladies : mutations causales germinales ou somatiques, gènes modificateurs, gènes de susceptibilité, gènes de fusion impliqués dans la causalité des tumeurs, gènes ayant un rôle majeur dans le phénotype des anomalies chromosomiques. Cette ontologie est disponible en libre accès depuis novembre 2013 sur BioPortal (<http://biportal.bioontology.org>) et sur Orphadata et est mise à jour tous les mois.

**Mots-clefs :** maladies rares, ontologie, base de données

## Innovations technologiques

C053/#240

### Genostase : réseau des laboratoires de la filière des maladies hémorragiques constitutionnelles

Catherine Costa (1), Christine Vinciguerra (2), Pierre Boisseau (3), Muriel Giansily (4), Claude Negrier (2)

1. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, AP-HP, Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel-Dieu, Paris, France
2. Service d'hématologie Biologique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital E.Herriot, Lyon, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Département d'hématologie biologique, CHU Montpellier, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** Costa Catherine (catherine.costa@inserm.fr)

Le réseau GENOSTASE, réseau des laboratoires réalisant les examens de caractéristiques génétiques des maladies constitutionnelles de la coagulation et de la fibrinolyse est né en 2006. Ce réseau comprend à l'heure actuelle 18 laboratoires explorant plus de 20 déficits correspondant à plus de 40 gènes.

Ce réseau initialement composé de laboratoires travaillant sur les hémophilies A et B a été rejoint par les laboratoires étudiant le gène de la maladie de Willebrand qui se sont structurés autour du centre de référence de la maladie de Willebrand (CRMW). Les pathologies hémorragiques rares (déficit en FVII, Protéine C, protéine S, fibrinogène.....) étudiées par un ou deux laboratoires ont souhaité rejoindre ce réseau.

GENOSTASE est aujourd'hui structuré autour de la filière de soin des maladies hémorragiques constitutionnelles en 3 sous-réseaux clairement définis : i)hémophilie, ii)autres déficits rares, et iii)Willebrand sur lesquels s'appuient le centre de référence des maladies hémorragiques (CRMH) pour les deux premiers et le centre de référence de la maladie de Willebrand (CRMW) pour le dernier. Un quatrième sous-réseau autour des thrombopathies est en cours d'élaboration au sein du centre de référence des pathologies plaquettaires (CRPP) lui-même en période de restructuration.

Ce réseau de laboratoires est multidisciplinaire car constitué de laboratoires de génétique, d'hématologie et de biochimie ce qui en fait une grande richesse et permet, en lien avec les acteurs cliniques, d'apporter une continuité clinico-biologique essentielle.

Nous présentons ici le travail du réseau en lien avec le CRMH et le CRMW, les ateliers, les projets collaboratifs, ainsi que l'implication de GENOSTASE au sein du réseau FranceCoag hébergé par l'Institut national de veille sanitaire (INVS), et avec l'appui des sociétés savantes.

Depuis sa création 7 ateliers ont été organisés réunissant de plus en plus de participants et intéressant aujourd'hui les cliniciens. Ces ateliers vivants et interactifs, sont très appréciés, notamment par les laboratoires travaillant sur les déficits rares et jusqu'à présent isolés. GENOSTASE est également impliqué dans les réunions du CRMH-CRMW où il est sollicité pour avis et conseils. Le travail du réseau s'est d'abord concrétisé par des rencontres autour d'un état des lieux et de présentation des acteurs, puis par la réalisation d'arbres décisionnels pour la prise en charge des patients hémophiles (à poursuivre pour les autres pathologies). Il se poursuit par une veille technologique et clinico-biologique constante pour être à jour des nouvelles technologies et stratégies d'étude de ces pathologies constitutionnelles en lien avec la filière de soin.

**Mots-cléfs :** Réseau, Filière, GENOSTASE

## Innovations technologiques

C054/#241

### Diagnostic moléculaire de l'hémophilie A par approche ciblée NGS

Catherine Costa (1), Cyril Burin des Rozières (1), Eric Pasmant (2), Audrey Briand (1), Tiffany Ghiotti (1), Sylvia Letourneau (1), Michel Goossens (1), Michel Vidaud (1), Marc Delpech (1), Sophie Valleix (3)

1. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, AP-HP, Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel-Dieu, Paris, France
2. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel-Dieu, Paris, France
3. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, AP-HP, Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel-Dieu, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Auteur correspondant :** Costa Catherine (catherine.costa@inserm.fr)

L'hémophilie A est une maladie hémorragique récessive liée à l'X due à un déficit quantitatif et/ou qualitatif, de degré variable, en facteur VIII de la coagulation. Le facteur VIII est codé par le gène F8, dont les parties codantes représentent un total de 9kb à explorer pour le diagnostic moléculaire de cette maladie. En dehors des 40% d'hémophilie A sévères dues à l'inversion de l'intron 22 du gène F8, le reste des hémophilies A sévères et l'ensemble des hémophilies A modérées/mineures sont dues à des mutations de petite taille extrêmement hétérogènes pouvant toucher n'importe quelle partie du gène. Jusqu'à présent, la caractérisation des mutations ponctuelles du gène F8 était réalisée par la technique de séquençage Sanger de toutes les régions codantes et cette approche a permis de résoudre 98% des hémophilies A. Pour améliorer le diagnostic moléculaire de l'hémophilie A, nous avons élaboré une approche NGS ciblée sur le gène F8 en utilisant la technique AmpliSeq™ de Life Technologies™ permettant d'explorer de façon plus exhaustive et plus rapidement, et à moindre coût, non seulement toutes les régions codantes mais également des régions de régulation plus larges du gène F8. Les données de séquence obtenues sont traitées par 2 logiciels complémentaires : Variant Caller™ et NextGENe™, permettant de répertorier très rapidement le variant causal en utilisant plusieurs filtres que nous avons personnalisés. Un panel de 40 patients, présentant différents types de mutations précédemment identifiées par séquençage Sanger, a été testé avec succès par cette approche NGS. Cette approche NGS est également prometteuse pour améliorer le conseil génétique dans les cas de néomutations qui représentent 30% des cas d'hémophilie A. En effet, cette approche NGS nous a permis de mettre en évidence des mutations du gène F8 à l'état de mosaïque. En conclusion, la validation des mises au point techniques et de l'analyse bioinformatique des données de ce design NGS ciblé sur le gène F8 nous permettent d'envisager, dès à présent, une utilisation diagnostique de routine.

**Mots-cléfs :** NGS, Hémophilie A, Mosaïque

## Innovations technologiques

C055/#290

### Mise en place d'une plateforme robotisée au sein d'un laboratoire de génétique moléculaire appliqué au génome humain

Christophe OLIVEIRA (1), Dilek IMANCI (2), Isabelle BOUCLY (2), Elodie DUPUIS (2), Lenaig LAMOUR (2), Alexis PROUST (3), Audrey BOUTRON (1), Anne DAVIT-SPRAUL (1), Abdel SLAMA (1), Anne GUIOCHON-MANTEL (2), Jérôme BOULIGAND (2), Bruno FRANCOU (2)

1. Service de Biochimie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital du Kremlin Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. Service de Génétique Moléculaire, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital du Kremlin Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Service d'Hématologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital du Kremlin Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

**Auteur correspondant** : Francou Bruno (bruno.francou@gmail.com)

Introduction : Afin de répondre aux demandes croissantes d'analyses de génétique moléculaire, aux exigences de délai de rendu de résultats et de traçabilité, nous avons entrepris de robotiser certaines étapes de la réalisation de PCR, de PCR en temps réel et des réactions de séquences Sanger.

Les zones pré et post PCR séparées au sein de notre laboratoire et les applications différentes nécessitent l'utilisation de 2 robots-pipeteurs : 1- l'Hamilton Starlet en pré-PCR pour la réalisation des normalisations d'ADN, mix PCR, mix de séquences et préparation de plaque de PCR en temps réel; 2- le Biomek NX Beckman Coulter, en post-PCR, pour la réalisation des purifications en billes magnétiques, dilutions, dépôt de produits de PCR et reformatage de 4 plaques 96 puits en une plaque 384 puits.

Objectifs : Obtenir une meilleure qualité de résultats en limitant les erreurs de pipetage (volume, ADN, primers), une meilleure efficacité (reproductibilité, rapidité, fiabilité) et une traçabilité requise par la norme ISO15189.

Méthode :

1- Tests des programmes installés par les fournisseurs et des programmes "maison" et conception d'un système de traçabilité et de rapports d'erreurs.

- Test en eau et bleu trypan afin d'évaluer la précision des pipetages.  
- Essais comparatifs en condition réelle avec des ADNs dans le but d'estimer la reproductibilité des résultats ainsi que l'absence de contamination.

2- Démarrage en routine de la plateforme robotisée : formation théorique et pratique des utilisateurs, suivi de l'appareil et des techniques utilisées.

Résultats :

1- Les tests en eau et au bleu trypan ont démontré la précision des pipetages. L'étude comparative entre méthodes manuelle et automatisée démontre la bonne programmation - i.e. absence d'erreurs d'identité et de contaminations des blancs - et une meilleure reproductibilité des techniques testées. Notamment le taux d'échec des séquences a diminué de 30%. La nouvelle méthode de purification automatisée a nettement amélioré la sensibilité du séquençage, permettant une économie de 50% de BigDyeTerminator®.

2- La mise en place de personnes référentes de ces appareils a permis la maîtrise, le développement et l'application des méthodes automatisées au sein de la plateforme (collection des dysfonctionnements et résolutions, programmations fines des méthodes, outils de traçabilité).

Conclusion : L'automatisation nous a permis d'avoir une meilleure traçabilité du prélèvement, de baisser les coûts, d'augmenter la productivité. Des progrès sont envisageables : installation d'un système de code à barres, traçabilité commune entre secteur pré et post PCR. L'automatisation permet bien une augmentation du débit de séquences (+22% entre 2009 et 2012) mais dans notre laboratoire elle est limitée par la disponibilité des thermocycleurs et du séquenceur. En revanche la préparation des analyses de séquençage moyen débit offre de nouvelles perspectives quant à l'évolution de la plateforme robotisée. **Mots-clés** : Automate, séquençage, accréditation

## Innovations technologiques

C056/#299

### De l'importance de l'interprétation des résultats des tests génétiques : bilan d'une étude transversale EuroGentest des programmes européens d'évaluation externe de la qualité (EEQ)

Emmanuelle Girodon (1), Sarah Berwouts (2), Marta Rodríguez de Alba Freiria (3), Anne-Françoise Roux (4), David Barton (5), Lies Hoefsloot (6), Sara Gardner (7), Outi Kamarainen (7), Brian Fowler (8), Simon Patton (7), Michael Morris (9), Elisabeth Dequeker (2), Rosalind Hastings (10)

1. Département de Génétique, GH Henri Mondor et Cochin-Broca-Hotel Dieu, AP-HP and Inserm U955, Créteil et Paris, France
2. Department of Public Health, Biomedical Quality Assurance Research Unit, University of Leuven, Leuven, Belgique
3. Genetics Department, Fundacion Jimenez Diaz, Madrid, Espagne
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier et IURC, Montpellier, France
5. University College Dublin, National University of Ireland, Dublin, Irlande
6. Department of Human Genetics, Radpoud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas
7. Genetic Medicine, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume-Uni
8. Paediatrics, University Children's Hospital, Basel, Suisse
9. Département de Médecine Génétique et de Laboratoire, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse
10. Women's Centre, John Radcliffe Hospital, Oxford University Hospitals NHS Trust, Oxford, Royaume-Uni

**Auteur correspondant** : Girodon Emmanuelle (emmanuelle.girodon@inserm.fr)

L'interprétation des résultats des tests génétiques est un élément-clé du compte-rendu, d'une part parce que le génotype d'un individu est fixé pour la vie, d'autre part du fait des implications pour son couple et sa famille. Afin d'évaluer les performances des laboratoires de génétique en la matière, une étude fut réalisée auprès des organismes européens de programmes d'évaluation externe de la qualité (EEQ), sous l'égide du programme européen EuroGentest (EUGT2), avec l'objectif de déterminer les éléments-clés manquant dans l'interprétation des comptes-rendus.

Les données de l'année 2011 concernant six programmes d'EEQ (mucoviscidose (CF Network), Friedreich ataxia (EMQN), surdité liée à des mutations au locus DFNB1 (EMQN), arrayCGH (CEQA et EMQN), diagnostic prénatal d'anomalies chromosomiques sur liquide amniotique (CEQA) et le diagnostic biochimique des maladies héréditaires du métabolisme (ERNDIM)) furent collectées. Au total, les données représentant 519 participations de laboratoires furent analysées et confrontées aux recommandations de l'OCDE sur l'interprétation des tests génétiques.

Les scores moyens d'interprétation variaient, selon les cas, de 1.61/2 à 1.98/2. Malgré une hétérogénéité dans les méthodes d'évaluation des différents programmes d'EEQ, les points suivants furent relevés : 1) l'insuffisance de réponse aux questions posées pouvait être liée au manque de retranscription de l'indication d'étude ; 2) les recommandations de tester les parents manquaient de façon critique; 3) entre 26 et 36% des comptes-rendus de génétique moléculaire et 29% de ceux de cytogénétique ne mentionnaient pas le risque de récurrence ni la possibilité de recourir à un diagnostic prénatal dans l'éventualité d'une future grossesse, lorsque la situation le justifiait.

Cette étude souligne la nécessité de communiquer davantage auprès des laboratoires, y compris au travers d'une harmonisation des programmes d'EEQ, afin que les laboratoires conçoivent l'interprétation comme un élément essentiel des comptes-rendus, et puissent ainsi l'améliorer. A l'heure du séquençage à haut débit, susceptible de mettre en évidence un grand nombre de variants génétiques de signification inconnue, l'interprétation des résultats en devient d'autant plus critique.

**Mots-clés** : Interprétation, EEQ, VSI

## Innovations technologiques

C057/#313

### Développement et validation d'une approche de séquençage nouvelle génération pour le diagnostic moléculaire des dystrophinopathies

Reda ZENAGUI (1), Delphine THOREL (1), Déborah MECHIN (2), Mireille CLAUSTRÉS (1), Mireille COSSEE (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU Montpellier, INSERM U827, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique moléculaire, CHRU, INSERM U827, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** COSSEE Mireille (mireille.cossee@inserm.fr)

Les dystrophinopathies sont dues à des mutations dans le gène DMD dont l'isoforme pleine longueur est composée de 79 exons. Les mutations les plus fréquentes sont des grands réarrangements impliquant un ou plusieurs exons (CNM, Copy Number Mutations). Les mutations ponctuelles représentent un tiers des mutations, elles sont situées le long du gène, sans point chaud mutationnel. Actuellement le diagnostic moléculaire fait appel à différentes étapes avec une recherche en premier lieu de CNM. En cas de négativité, une recherche de mutation ponctuelle est entreprise par séquençage du transcrite musculaire ou, en l'absence de biopsie musculaire disponible, séquençage génomique des exons et des jonctions exons-introns du gène DMD. Cette dernière approche est longue et coûteuse, et n'est réalisée que par quelques laboratoires de référence. L'émergence du séquençage nouvelle génération (NGS-Next generation sequencing) va révolutionner le diagnostic des maladies génétiques. Nous avons souhaité tester son implication possible dans la recherche de mutations dans le gène DMD. À cette fin, nous avons sollicité la Société Multiplicom pour développer un test de PCR multiplex des 79 exons et des sites d'épissage du gène DMD (DMD MASTR assay™) et collaboré avec la société Roche pour le NGS des amplicons sur séquenceur GS junior. Nous avons comparé les données générées par cette approche avec celles obtenues par le séquençage Sanger classique sur une cohorte de patients présentant des mutations connues et inconnues, et testé sa qualité et sa reproductibilité. Les résultats montrent que la stratégie de NGS peut être appliquée avant tout séquençage Sanger, avec un gain de temps majeur des étapes expérimentales et d'analyse. Cette approche de PCR multiplex-NGS devrait également permettre de détecter des CNMs. Si cette application est effective, une seule technique devrait permettre le dépistage de la majorité des mutations DMD, réduisant ainsi le coût et les délais de diagnostic.

**Mots-clés :** DMD, séquençage nouvelle génération, mutations

## Innovations technologiques

C058/#398

### Séquençage Nouvelle Génération (NGS) pour le diagnostic moléculaire des vitréorétinopathies héréditaires

Cyril Burin des Rozières (1), Pierre-Raphael Rothschild (2), Antoine Brézin (3), Georges Caputo (4), Amandine Barjol (5), Tiffany Ghiotti (6), Brigitte Nédelec (7), Audrey Putoux (8), Sandrine Marlin (9), Hélène Dollfus (10), Valérie Pelletier (11), Elise Schaefer (11), Isabelle Audo (12), Josseline Kaplan (13), Géraldine Viot (14), Marion Gérard (15), Sophie Valleix (16)

1. AP-HP, Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel-Dieu, Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Cochin, Paris, France
2. Service d'Ophthalmologie, CHU Cochin, Paris, France
3. Service d'Ophthalmologie, CHU Cochin, Paris, France
4. Service d'Ophthalmologie Pédiatrique, Fondation Rothschild, Paris, France
5. Service d'Ophthalmologie, Fondation Rothschild, Paris, France
6. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Cochin, Paris, France
7. INSERM URMS872, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU Lyon, Lyon, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France
10. Service d'Ophthalmologie, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
11. Service de Génétique Médicale, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
12. INSERM CIC503, Hôpital des Quinze-Vingts, Paris, France
13. Laboratoire de Génétique, Institut de recherche Necker-Enfants Malades, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France
14. Service de Génétique Médicale, CHU Cochin, Paris, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU Caen, Caen, France
16. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Cochin, Paris, France

**Auteur correspondant :** Valleix Sophie (sophie.valleix@cch.aphp.fr)

Les vitréorétinopathies exsudatives (VREF) et les vitréorétinopathies dégénératives (Syndrome de Stickler et maladie de Wagner) constituent un groupe de maladies mal connues, génétiquement hétérogènes, associant un arrêt prématuré de la vascularisation de la rétine périphérique et/ou des anomalies de structure du vitré. Les anomalies vitréorétiniennes observées au cours de ces maladies rares sont similaires à celles observées au cours de la rétinopathie du prématuré (ROP), et peuvent également s'accompagner d'une persistance anormale de l'artère hyaloïde (PAH). L'ensemble des gènes identifiés jusqu'à présent responsables de ces vitréorétinopathies héréditaires et de quelques cas de ROP et de PAH appartiennent pour la majorité à la voie de signalisation Wnt/norrrin, expliquant ainsi la similarité clinique et physiopathologique de toutes ces entités. Le diagnostic moléculaire exhaustif de ces vitréorétinopathies héréditaires n'était pas réalisé en France car il repose sur l'étude de plusieurs gènes de très grande taille rendant cette analyse longue, fastidieuse et coûteuse. Avec l'avènement des techniques de Séquençage Nouvelle Génération (NGS), nous avons élaboré une stratégie NGS ciblée en utilisant la technique AmpliSeq™ de Life Technologies™ permettant le criblage simultané d'un panel de 12 gènes avec une couverture de 60kb environ au total: COL2A1, COL11A1, COL9A1, COL9A2, VCAN, KCNJ13, FZD4, LRP5, TSPAN12, NDP, ATOH7, ZNF408. Les données de séquence obtenues sont traitées par 2 logiciels complémentaires : Variant Caller™ et NextGENe™, permettant de répertorier très rapidement le variant causal en utilisant plusieurs filtres que nous avons personnalisés. Un panel de 150 patients a été analysé par cette approche NGS et validé, en partie, par séquençage Sanger nous permettant d'envisager, dans un proche avenir, cette technologie pour le diagnostic hospitalier. Les retombées de ce projet sont importantes pour l'établissement d'un diagnostic de certitude, l'élaboration d'une corrélation génotype-phénotype et pour une classification nosologique claire de l'ensemble de ces maladies cécitantes. Cette approche NGS ciblée pourrait également être appliquée à des maladies rétinienues plus fréquentes qui présentent des mécanismes pathogéniques communs permettant d'identifier des facteurs génétiques de prédisposition.

**Mots-clés :** Séquençage Nouvelle Génération, Vitréorétinopathie, maladies génétiques rétinienues



**Innovations technologiques****C059/#421****PCR-multiplex, séquençage haut débit et SNP array : une nette amélioration du diagnostic moléculaire du syndrome de Usher**

I Audo (1), A Auricchio (2), S Banfi (3), Crystel Bonnet (4), Sandra Chantot-Bastarud (5), S Dad (6), A Fakin (7), Souad Gherbi (8), M Hawlina (7), S Kohl (9), Anne Kurtenbach (10), Sandrine Marlin (8), L Martorell Sampol (11), S Mohand-Said (1), LB Moller (6), Christine Petit (12), J Rodriguez Jorge (13), JA Sahel (1), F Simonelli (14), I Sliesoraityte (15), F Testa (16), D Zobor (17), E Zrenner (10), Françoise Denoyelle (18)

1. Ophtalmologie, Institut de la Vision, INSERM, UMR S968, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins, Centre d'Investigation Clinique, Paris, France
2. Medical Genetics, Department of Translational Medicine, Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Federico II University, Naples, Italie
3. Medical Genetics, Department of General Pathology, Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Université II de Naples, Naples, Italie
4. INSERM UMRS1120, UPMC, Institut de la Vision, PARIS, France
5. Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, INSERM U933, Paris, France
6. Génétique moléculaire humaine, Kennedy Center, Copenhagen University Hospital Rigshospitalet, Glostrup, Danemark
7. Ophthalmology, Eye Hospital, University Medical Centre Ljubljana, Ljubljana, Slovénie
8. Centre de référence des Surdités Génétiques, Service de Génétique, Hôpital Necker, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France
9. Génétique moléculaire, Institute for Ophthalmic Research, University of Tuebingen, Tuebingen, Allemagne
10. Ophthalmology, Institute for Ophthalmic Research, University of Tuebingen, Tuebingen, Allemagne
11. Chirurgie pédiatrique, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelone, Espagne
12. Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, INSERM UMRS 1120, Institut de la Vision, UPMC, Institut Pasteur, Collège de France, PARIS, France
13. ORL, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelone, Espagne
14. Ophtalmologie, Second university of Napoli, Naples, Italie
15. Ophtalmologie, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Centre d'Investigation clinique, Paris, France
16. Ophtalmologie, Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Naples, Italie
17. ORL, Institute for Ophthalmic Research, University of Tuebingen, Tuebingen, Allemagne
18. ORL, Hôpital Necker, Paris, France

**Auteur correspondant :** Bonnet Crystel (crystel.bonnet@inserm.fr)

Le syndrome de Usher est la cause héréditaire majeure de surdi-cécité chez l'homme. A ce jour, 12 loci ont été caractérisés et 10 gènes responsables ont été identifiés. Afin d'améliorer le diagnostic moléculaire (son efficacité, le délai du rendu de ses résultats aux patients ou à leurs familles, et d'en réduire le coût), et surtout d'accroître sa fiabilité et son exhaustivité dans la perspective d'un essai thérapeutique, nous avons tiré parti des nouvelles technologies de séquençage pour développer un nouvel outil de diagnostic : la PCR multiplex associée au séquençage à haut débit couplé à la SNP array pour détecter les grands réarrangements. En conjuguant ces approches pour analyser une cohorte de 400 patients atteints du syndrome de Usher, nous avons pu déceler des mutations bialléliques chez 91% des patients et une seule mutation chez 6 % d'entre eux. De grands réarrangements (délétion et/ou duplication) sont observés chez 5% des patients de la cohorte et chez 37% des patients présentant une seule mutation pathogène. De façon intéressante, un patient porteur d'une mutation non-sens homozygote dans USH2A, était également porteur d'une mutation non-sens hétérozygote dans USH1G. Cette observation est essentielle dans une perspective de thérapie génique. Le diagnostic rapide et fiable que nous avons obtenu marque une étape tant dans le diagnostic que dans les nouveaux développements thérapeutiques.

**Mots-clefs :** Syndrome de Usher, diagnostic moléculaire, PCR multiplex

**Innovations technologiques****C060/#429****Apport du séquençage haut débit au diagnostic moléculaire des pathologies mitochondriales**

Sophie Vasseur (1), Bénédicte Mousson de Camaret (1), Christine Vianey-Saban (1), Cécile Acquaviva (1)

1. Maladies Héritaires du Métabolisme, Centre de Biologie et de Pathologie Est, CHU Lyon, Bron, France

**Auteur correspondant :** Acquaviva Cécile (cecile.acquaviva-bourdain@chu-lyon.fr)

**Objectif :** Les pathologies mitochondriales sont très hétérogènes tant sur le plan clinique que moléculaire car elles sont liées soit à des mutations de l'ADN mitochondrial soit à des mutations du génome nucléaire. La cause moléculaire de ces pathologies reste le plus souvent méconnue du fait des limites de l'approche diagnostique classique, gène par gène. Dans le but d'améliorer l'efficacité et le coût du diagnostic moléculaire de ces pathologies, une stratégie de Next Generation Sequencing (NGS) a été mise au point incluant treize gènes nucléaires responsables de délétions multiples ou de déplétion de l'ADN mitochondrial : ANT1, DGUOK, MFN2, MPV17, OPA1, PEO1, POLG, POLG2, RRM2B, TK2, TYMP, SUCLA2, SUCLG1.

**Méthodologie :** La technique d'enrichissement par double capture (stratégie NimbleGen, Roche), adaptée à un panel restreint de treize gènes a été appliquée à huit échantillons d'ADN de patients. Elle concerne 154 régions ciblées représentant 49 kb et correspondant aux exons et aux jonctions exons-introns incluant 20 nucléotides introniques. Après préparation des librairies d'ADNs, la double capture des régions ciblées est effectuée après validation de la séquence des sondes spécifiques (SeqCap EZ Choice Library, Roche). Le séquençage simultané des huit ADNs est effectué avec l'analyseur PGM™ System (Life Technologies). L'analyse bioinformatique des variants est réalisée avec le logiciel NextGENe® (SoftGenetics).

**Résultats :** Après alignement avec les séquences de référence, la double capture NimbleGen offre une très bonne homogénéité de couverture avec une profondeur moyenne de 919X pour la majorité des régions d'intérêt. Seuls trois exons du gène TYMP (7, 8b et 9) sont faiblement couverts pour l'ensemble des ADNs, avec une profondeur inférieure à 30X. Pour six des huit patients, les mutations homozygotes et hétérozygotes, préalablement identifiées par la méthode de Sanger, ont été retrouvées dans les gènes ANT1, PEO1, POLG, RRM2B et TYMP. Pour deux autres patients, aucune variation pathogène n'a été détectée.

**Conclusion :** Les résultats de cette stratégie NGS ont permis : 1) de valider la méthodologie choisie, 2) de caractériser les variants préalablement identifiés par la méthode de Sanger, chez des patients porteurs de délétions multiples ou de déplétion de l'ADNmt. A l'avenir, cette approche NGS sera utilisée pour le diagnostic moléculaire de ce groupe de patients mais devra être actualisée au fur et à mesure de la découverte de nouveaux gènes candidats.

**Mots-clefs :** séquençage haut débit, pathologies mitochondriales, diagnostic moléculaire

## Innovations technologiques

C061/#435

### Diagnostic moléculaire du syndrome de Gilbert par Tetra-ARMS PCR.

Aurélië HUBERT (1), Philippe LABRUNE (2), Frédéric PARISOT (3), François PETIT (3)

1. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme hépatique, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
2. Pédiatrie, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France

**Auteur correspondant :** PETIT François (francois.petit@abc.aphp.fr)

#### INTRODUCTION

Le syndrome de Gilbert est une affection bénigne du métabolisme de la bilirubine à l'origine d'une hyperbilirubinémie modérée et fluctuante. Son diagnostic moléculaire a un double intérêt. D'abord, il permet de poser le diagnostic de syndrome de Gilbert dans les cas d'hyperbilirubinémie sans cause évidente (anomalies des globules rouges notamment). Ensuite, il est devenu un test de pharmacogénétique important dans le traitement par l'irinotécan pour permettre une adaptation individualisée des doses.

Plusieurs variations de séquence du gène UGT1A1 et de sa séquence promotrice ont été impliquées dans le syndrome de Gilbert. Les plus fréquentes sont le polymorphisme du promoteur A(TA)<sub>5,6,7,8</sub>TAA (TATAbox) dans les populations caucasienne et africaine, la mutation c.211G>A dans la population asiatique et le polymorphisme de la séquence de liaison au phénobarbital (PBREM) c.-3279T>G.

Le but de ce travail était de mettre au point une méthode d'analyse permettant la recherche rapide et simultanée de ces trois variants par mesure de longueurs de fragments fluorescents.

#### MATERIELS ET METHODES

Deux amplifications avec les mêmes caractéristiques de température et de durée des phases ont été utilisées pour l'analyse de ces variants. Pour la PCR1, nous avons utilisé deux couples de primers : un premier avec une amorce marquée en VIC encadrant la région variable du promoteur du gène UGT1A1 (TATAbox) et un second avec une amorce marquée en PET encadrant l'exon 12 du gène de l'AFP et servant de témoin d'amplification. Pour la PCR2, nous avons adaptés la technique de Tetra-ARMS PCR en utilisant deux groupes de quatre amorces : un premier avec deux amorces marquées en NED pour la recherche de la mutation c.211G>A et un deuxième avec deux amorces marquées en 6-FAM pour la recherche de la mutation c.-3279T>G. Les produits amplifiés ont ensuite été mélangés, séparés par électrophorèse capillaire (ABIPrism 3130, Life Technologies) et leur taille mesurée par rapport à l'étalon GeneScan 500LIZ (Life Technologies) grâce au logiciel GeneMapper (Life Technologies).

Les résultats obtenus sur un panel de 155 patients couvrant les différents génotypes possibles ont été comparés à ceux obtenus par séquençage des régions d'intérêt.

#### RESULTATS

Pour l'ensemble des 155 patients testés, il a été retrouvé 100% d'homologie entre l'analyse par Tetra-ARMS et les résultats du séquençage pour l'ensemble des trois variants étudiés.

#### DISCUSSION-CONCLUSION

La technique Tetra-ARMS PCR a montré son efficacité pour la recherche des trois variants fréquents impliqués dans le diagnostic moléculaire du syndrome de Gilbert TATAbox, PBREM et mutation asiatique. Elle permet un rendu rapide avec une vision plus globale que la simple recherche du polymorphisme du promoteur.

Elle est actuellement utilisée en routine au laboratoire et a fait l'objet d'une accréditation par le Cofrac en septembre 2013.

**Mots-clefs :** Tetra-ARMS PCR, syndrome de Gilbert, trois variants

## Innovations technologiques

C062/#482

### Application du séquençage de nouvelle génération au diagnostic du syndrome du QT long

Mathilde Giraud (1), Sébastien Schmitt (1), Solenne Dumont (1), Anne Ponchaut (1), Thierry Marsaud (1), Pierre Boisseau (1), Fabrice Airaud (1), Pierre Lindenbaum (2), Raluca Teusan (2), Stéphanie Bonnaud (2), Laëticia Duboscq-Bidot (2), Hervé Le Marec (2), Jean Jacques Schott (2), Richard Redon (2), Vincent Probst (2), Stéphane Bezieau (1), Florence Kyndt (2)

1. Service de génétique, CHU, Nantes, France
2. Institut du thorax, INSERM UMR 1087 / CNRS UMR 6291, CHU, Nantes, France

**Auteur correspondant :** Kyndt Florence (florence.kyndt@univ-nantes.fr)

Le séquençage à haut débit (appelé de nouvelle génération ou NGS) est en train de révolutionner l'activité de diagnostic génétique. L'objectif de ce travail est de développer un protocole NGS adapté au diagnostic du syndrome du QT long congénital. Le syndrome du QT long est une pathologie cardiaque héréditaire associée à un allongement de la durée de repolarisation du potentiel d'action cardiaque qui se traduit par un allongement de l'espace QT de l'ECG et des anomalies de l'onde T. Il est à l'origine d'arythmies susceptibles de provoquer des syncopes voire des morts subites chez des adultes jeunes ayant un cœur structurellement normal. Des mutations dans 13 gènes ont été décrites. Le diagnostic moléculaire par les techniques classiques (High Resolution Melting ou séquençage Sanger) est aujourd'hui limité à 6 gènes : ainsi 25% des cas restent sans diagnostic. De plus, le diagnostic séquentiel des gènes, long et coûteux, ne permet pas de détecter certaines formes digéniques. Nous avons développé un protocole NGS utilisant une préparation de banque par technologie Haloplex (Agilent) suivie d'un séquençage sur MiSeq (Illumina) et une analyse bioinformatique interne à l'aide des outils d'alignements BWA et d'annotation SAMTOOLS. Les critères de validation ont compris la profondeur et la qualité du séquençage, la détection des variations préalablement identifiées par séquençage Sanger et la spécificité. Cette approche a permis dans un premier temps l'analyse simultanée de 42 gènes responsables d'arythmies héréditaires. En moyenne, 92% des régions cibles étaient couvertes avec une profondeur minimale de 40X et nous avons pu détecter 99% des mutations préalablement identifiées par séquençage Sanger, mais certaines régions exoniques étaient couvertes de façon insuffisante. Nous avons donc développé un second panel comportant 71 gènes pour lequel 160 régions de couverture insuffisante ont été enrichies et nous présenterons la comparaison de ces 2 panels ainsi que les résultats obtenus sur les 13 gènes du syndrome du QT long pour une vingtaine de patients.

**Mots-clefs :** NGS, arythmies cardiaques, Haloplex

## Innovations technologiques

C063/#495

### Exploration biologique des serpinopathies par séquençage de nouvelle génération sur PGM Ion Torrent

Marie-Françoise ODOU (1), Michel CREPIN (1), Jérôme GUDEWICZ (1), Evelyne CREME (1), Farid ZERIMECH (1), Nicole PORCHET (1), Malika BALDUYCK (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire HMNO, CHRU de Lille, Lille, France

**Auteur correspondant :** ODOU Marie-Françoise (marie-francoise.odou@univ-lille2.fr)

**Introduction :** Le déficit familial en alpha-1 antitrypsine (AAT), antiprotéase codée par le gène SERPINA1, est une maladie génétique autosomique récessive qui se traduit le plus souvent par une atteinte pulmonaire de type emphysème ou BPCO (broncho-pneumopathie chronique obstructive), parfois par des troubles hépatiques voire d'autres atteintes plus rares. L'expression clinique du déficit est très variable selon les individus, y compris chez les sujets hétérozygotes. Il existe, pour cette antiprotéase, un polymorphisme génétique important. Des gènes modificateurs pourraient également jouer un rôle dans l'expression de cette pathologie (dont les gènes IL10 ou CASR). Par ailleurs, la recherche d'un déficit en AAT s'avère parfois négative alors que le tableau clinique était évocateur. Des gènes proches et de la même famille que SERPINA1 (SERPINE2, SERPINA3), non explorés actuellement en pratique courante, pourraient également être impliqués. Nous avons donc développé une approche par séquençage de nouvelle génération pour l'analyse simultanée de ces différents gènes.

**Objectif :** Réaliser le diagnostic génotypique des déficits héréditaires en AAT par séquençage de nouvelle génération et compléter l'analyse par l'étude d'autres gènes potentiellement impliqués dans la pathologie.

**Matériel et méthodes :**

Les échantillons d'ADN de trente et un patients, dont l'exploration phénotypique et génotypique de déficit en AAT a été préalablement réalisée (dosage pondéral, mesure du pouvoir antiélastasique, phénotypage par isoélectrofocalisation, génotypage par séquençage Sanger) ont été sélectionnés.

Un choix d'amorces a été réalisé par Ampliseq designer (Life Technologies) ciblant les gènes SERPINA1, SERPINA3, SERPINE2, IL10 et un fragment du gène CASR, représentant 83 amplicons en 2 pools.

Après extraction et normalisation des ADN, les fragments étaient amplifiés puis normalisés, identifiés par code barre puis purifiés et rassemblés en librairie avant la PCR en émulsion, l'enrichissement et l'analyse sur le séquenceur Ion Torrent Personal Genome Machine®. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel SeqNext®.

**Résultats :** Trois séries d'analyses ont été réalisées (concernant 8 patients, puis 12 et 12). Les couvertures étaient de 97% (84, 94 et 77 MB) et les profondeurs moyennes étaient respectivement de 832 X, 497 X et 528 X. L'analyse des données a permis de caractériser sous forme homozygote ou hétérozygote l'ensemble des variations de séquence préalablement identifiées par séquençage Sanger sur le gène SERPINA1 à l'exception d'une variation de séquence dans un homopolymère retrouvée seulement à 20 %.

**Conclusion :** Le séquençage de nouvelle génération appliqué à un panel de gènes ciblés apparaît comme une approche prometteuse, fiable et rapide pour l'exploration biologique des serpinopathies qui permettra de préciser ainsi la contribution de ces différents gènes à la variabilité d'expression clinique de ces maladies génétiques.

**Mots-clefs :** alpha-1 antitrypsine, serpinopathies, séquençage de nouvelle génération

## Innovations technologiques

C064/#501

### Révolution en diagnostic moléculaire avec l'arrivée du séquençage nouvelle génération : De l'Ion Torrent PGM® au compte rendu, le versant bioinformatique.

Eulalie LASSEAUX (1), Aurélien TRIMOUILLE (1), Claudio PLAISANT (1), Dorothee CAILLEY (1), Benoît ARVEILER (2), Patricia FERGELOT (1)

1. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France

2. Génétique Médicale - Laboratoire MRGM, CHU Bordeaux - Université Bordeaux, BORDEAUX, France

**Auteur correspondant :** LASSEAUX Eulalie (lalierob@yahoo.fr)

L'ion Torrent PGM® (Personal Genome Machine Life technologies) est un séquenceur moyen débit adapté à un laboratoire de génétique moléculaire d'un CHU pour le diagnostic de pathologies génétiques rares. La stratégie de séquençage choisie est le multiplexage d'amplicons sur des puces 316 permettant le multiplexage de 11 patients pour obtenir une bonne profondeur de couverture. La première étape « bioinformatique » du workflow est le design d'un premier panel de 12 gènes à l'aide du logiciel Ampliseq Designer® Life, qui contient les principaux gènes impliqués dans l'albinisme oculocutané (TYR, OCA2, TYRP1, SLC45A2), l'albinisme oculaire lié à l'X (GPR143) et le syndrome d'Hermansky Pudlak (HPS1). Ce premier design nous a permis de mettre en place le workflow d'analyse bioinformatique de la sortie des données brutes du séquenceur jusqu'à l'annotation (des raws data, au base calling, à l'alignement, au variant calling, à l'annotation). Pour les premières étapes (des raws data au variant calling), la suite logicielle Torrent Suite® fournie avec le PGM est utilisée.

1) Le base calling correspond à la création des reads à partir du signal détecté par le PGM lors de la libération des ions H+. Ces reads non alignés correspondent aux fichiers FASTQ (format texte avec scores de qualité). 2) L'alignement est basé sur un système de score de qualité relié au taux de similarité entre les deux séquences comparées. Le logiciel d'alignement utilisé pour les données sortant de l'ion Torrent PGM est le TMAP. Il permet la création des fichiers SAM, BAM et BAI. Les fichiers alignés sont visualisés via le logiciel IGV® (Integrative Genomic Viewer) ou Alamut®. 3) Le variant calling est réalisé à partir du Torrent Variant Caller 4.0 avec les paramètres standards Germline PGM Lowstringency et actuellement des tests sont réalisés sur les différents paramètres du variant caller (Fréquence allélique minimum, Qualité minimum, Couverture minimum, Biais de brin...). Le fichier VCF (Variant Calling Format) décrit les variations détectées telles que les SNV (Single Nucleotide Variation) et insertion/délétion. 4) L'annotation est réalisée avec le logiciel commercial Alamut® (Interactive Biosoftware, Rouen). Le fichier VCF de variants du patient est importé dans Alamut et un export des variants annotés gène par gène est réalisé. A partir de ce fichier annoté, les variants pathogènes sont identifiés à partir des bases de données de mutations HGMD, Albinism Database et des logiciels de prédiction de pathogénicité (Polyphen, Mutation Taster...). Une confirmation des variants par séquençage Sanger est réalisée. In fine, le compte rendu est rédigé dans notre logiciel métier DEF GEN®. L'analyse des premiers patients a permis de valider le workflow bioinformatique.

**Mots-clefs :** bioinformatique, séquençage nouvelle génération, Albinisme

## Innovations technologiques

C065/#502

## Optimisation d'un panel de 41 gènes pour le diagnostic des épilepsies monogéniques.

Audrey LABELME (1), Sarra DIMASSI (1), Amandine CAMPAN-FOURNIER (1), Claire BARDEL (2), Nadia BOUTRY-KRYZA (3), Pascal ROY (2), Raphaëlle LAMY (3), Patrick EDERY (1), Alain CALENDER (3), Damien SANLAVILLE (1), Gaëtan LESCA (1)

1. Génétique, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
2. Biostatistique des HCL, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
3. Génétique Médicale et Moléculaire, Hospices Civils de Lyon, LYON, France

**Auteur correspondant** : LABELME Audrey (audrey.labelme@chu-lyon.fr)

Le séquençage haut débit (Next Generation Sequencing – NGS) représente sans conteste une avancée révolutionnaire dans le domaine du diagnostic moléculaire, surtout pour les maladies présentant une grande hétérogénéité génétique. En effet, dans ces situations pathologiques, un nombre limité de gènes est actuellement analysé de façon séquentielle. Le NGS permet une analyse simultanée d'un très grand nombre de gènes et de patients (multiplexage). Le transfert en diagnostic de ces nouvelles méthodes de séquençage permet ainsi d'augmenter l'efficacité diagnostique avec des contraintes acceptables en termes de coût et de temps humain.

Dans le but d'optimiser le diagnostic de patients atteints d'épilepsie, nous testons deux kits permettant de capturer les régions exoniques (+/-50 pb au niveau des régions introniques flanquant les exons) et les UTRs de 41 gènes dont les mutations sont responsables de différentes formes d'épilepsies monogéniques ou de syndromes neuropédiatriques dans lesquelles l'épilepsie est un symptôme fréquent. A l'heure actuelle, au sein de notre laboratoire, seuls 13 de ces gènes sont étudiés dans le cadre diagnostique, par la méthode Sanger. Les deux kits testés sont le kit Haloplex d'Agilent® et le kit SeqCap de Roche®. La couverture attendue (couverture prévue par les analyses in silico) est respectivement de 99.83% et 99.9% pour chacun de ces kits. Ils seront testés sur un séquenceur PGM Life Technologies®.

Quarante-quatre patients, dont 41 présentent une mutation de l'un de ces gènes préalablement caractérisée par la méthode Sanger, ont été analysés en aveugle, après anonymisation, avec le kit Haloplex. Pour des raisons de différence de conditionnement entre les kits, seulement 24 patients pris au hasard parmi les 44 à disposition, sont en cours d'étude avec le kit SeqCap, toujours en aveugle.

Une comparaison de la couverture obtenue sera faite ainsi que du pourcentage de mutations pathogènes détectées (mutations déjà identifiées par la technique de séquençage Sanger). L'alignement des séquences sera fait via le Torrent Browser fourni avec le séquenceur grâce à l'algorithme d'alignement TMAP. Nous disposons également de deux outils bioinformatiques pour identifier les variants après alignement : le Torrent Suite Software Variant Caller® fourni avec le séquenceur et le logiciel NextGENe®. Les différents paramètres d'analyse des données seront aussi discutés.

Dans l'objectif d'une utilisation en diagnostic de routine, le coût et le temps de manipulation seront également évalués afin de déterminer la meilleure solution technique à adopter.

**Mots-clefs** : séquençage haut débit, panel, épilepsie

## Innovations technologiques

C066/#512

## Apport de la CGH array dans le diagnostic moléculaire de la glycogénose de type III (gène AGL).

Sophie BRISSET (1), Loïc DREVILLON (1), Aurélie HUBERT (2), Philippe LABRUNE (3), Corinne METAY (1), Karen MILCENT (3), Frédéric PARISOT (4), François PETIT (4), Gérard TACHDJIAN (1), Lucie TOSCA (1)

1. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France
2. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme hépatique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France
3. Pédiatrie, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France

**Auteur correspondant** : PETIT François (francois.petit@abc.aphp.fr)

## INTRODUCTION

La glycogénose de type III ou maladie de Cori-Forbes est une affection rare du métabolisme du glycogène liée à un déficit de l'enzyme débranchante. Sur le plan clinique, ce déficit est responsable d'hypoglycémies de jeûne et d'une hépatomégalie régressant avec l'âge, laissant place à une maladie musculaire (atteinte cardiaque et/ou atteinte du muscle squelettique).

Le diagnostic de la glycogénose de type III est double. D'une part, il est possible de réaliser une mesure de l'activité enzymatique sur leucocytes en biochimie. D'autre part, il est possible de séquencer l'ensemble du gène AGL (34 exons, plus de 120 anomalies de séquence décrites). Il est recommandé de réaliser l'analyse biochimique dans un premier temps et de la compléter, si elle s'avère positive, par l'analyse génétique.

Dans notre laboratoire, nous avons réalisé le séquençage de près de 100 patients présentant une glycogénose clinique et/ou biochimique. Pour certains patients, nous n'avons pu identifier aucune ou qu'une seule anomalie de séquence délétère.

Le but de ce travail était d'évaluer l'intérêt de l'analyse par CGH-array chez les patients réfractaires au séquençage complet du gène AGL.

## MATERIELS ET METHODES

6 patients ont été inclus : 3 étaient porteurs d'une anomalie de séquence délétère à l'état hétérozygote (P1 : c.4345\_4346delCCins17 +/-, P2 : c.3652C>T +/-, P3 : c.256C>T +/-), 2 n'avaient aucune anomalie identifiée (P4 et P5) et 1 était porteur de la mutation non-sens c.256C>T à l'état homozygote mais cette anomalie n'avait pas été retrouvée chez la maman (P6 : c.256C>T +/-).

Pour l'analyse par CGH-array, nous avons utilisé des puces 400K Agilent couvrant le gène AGL avec 17 oligonucléotides.

## RESULTATS

Une délétion de 44kb en 1p21.2 couvrant les exons 1 à 19 a été identifiée par CGH-array 400K chez le patient P6 et a été confirmée par qPCR chez l'enfant et la maman. Aucune anomalie (duplication ou délétion) n'a été retrouvée chez les autres patients.

## DISCUSSION-CONCLUSION

La CGH-array est un outil puissant d'analyse pangénomique nous ayant permis de mettre en évidence une large délétion hétérozygote dans le gène AGL chez un patient.

Notre cohorte est encore réduite et d'autres patients devront être inclus mais cette première approche montre l'intérêt de la CGH-array dans le diagnostic de maladies monogéniques impliquant de grands gènes. Elle doit cependant être utilisée en deuxième ou troisième intention chez des patients pour lesquels la présence d'une large délétion est déjà fortement suspectée et pour lesquels le séquençage systématique de l'ensemble de la séquence codante ne donne pas un résultat complet. De manière à affiner l'analyse quantitative pour ce gène, une analyse avec une puce plus résolutive (1000K Agilent par exemple) est envisagée par la suite.

**Mots-clefs** : Glycogénose type III, CGH-array, diagnostic moléculaire



## Innovations technologiques

**C067/#516**

### Implantation du séquençage haut-débit : application au diagnostic des surcharges en fer rares d'origine génétique.

Marie-P Beaumont (1), Wilfrid Carré (1), Edouard Bardou-Jacquet (2), Charles Duval (1), Sophie Hougron (1), Pierre Brissot (2), Véronique David (1), Anne-Marie Jouanolle (1)

1. Service de génétique moléculaire et génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France

2. Centre de référence des surcharges en fer rares d'origine génétique, CHU Pontchaillou, Rennes, France

**Auteur correspondant :** Beaumont Marie (mp.beaumont@hotmail.com)

Les hémochromatoses correspondent à des surcharges en fer d'origine génétique dont la forme la plus fréquente est due à l'homozygotie p.Cys282Tyr (C282Y) du gène HFE. D'autres entités, plus rares, liées à différents gènes impliqués dans le métabolisme du fer ont été décrites. Le diagnostic moléculaire de ces surcharges en fer repose actuellement sur l'analyse séquentielle de 7 gènes HFE, HJV (hémouvéline), HAMP (hepcidine), TFR2 (récepteur 2 de la transferrine), BMP6 (bone morphogenic protein), CP (céruloplasmine) et SLC40A1 (ferroportine).

Pour accélérer et améliorer la procédure diagnostique, le séquençage haut-débit sur PGM (Life Technologies-Ion Torrent) a été mis en place au sein de notre laboratoire. La méthode Ampliseq custom panel a été utilisée pour définir 170 couples d'amorces nécessaires au reséquençage des séquences codantes (-50 ; +10) et 5'UTR des 7 gènes ainsi que des promoteurs des gènes HAMP et SLC40A1. La couverture totale des séquences analysées s'étend sur 23 kb. Après les étapes de PCR multiplex, constitution des bibliothèques, amplification clonale en émulsion, et séquençage basé sur l'émission de protons, les séquences sont analysées par le logiciel standard Ion Torrent Suite et alignées sur la séquence hg19 via les algorithmes TMAP de Ion Torrent. Les variants sont identifiés à l'aide du logiciel Plugin Variant Caller (Ion Torrent) et annotés avec plusieurs outils (AnnoVar, Ion Reporter, Alamut HT) en cours d'évaluation.

A ce jour, la méthode a été évaluée sur 39 patients préalablement génotypés en Sanger et pour lesquels 35 variants différents avaient été identifiés dans les différents gènes. Les patients ont été testés par groupe de 16 sur des puces 316 (capacité d'analyse théorique de 100 Mb). Parallèlement des tests de répétabilité et de reproductibilité ont été réalisés.

Résultats : la couverture proposée par Ampliseq Designer était de 97,54% et s'élevait à 99,34% en excluant la région 5'UTR et l'exon 1 du gène BMP6 très riches en GC. A l'issue de nos essais plus de 98% des amplicons avaient une profondeur supérieure à 20X. Les 35 variants attendus ont été retrouvés et 7 nouveaux variants situés dans les régions 5'UTR et promotrices non séquencées en Sanger ont été identifiés.

Par cette technique 16 patients ont pu être analysés en 2 semaines alors que 2 mois étaient nécessaires dans le cas d'une analyse séquentielle des 7 gènes.

Conclusion : les premiers résultats de séquençage haut-débit ont permis de valider la performance de la technique pour le diagnostic des surcharges en fer héréditaires. Cette technique présente plusieurs avantages par rapport au séquençage par la méthode de Sanger : élargissement des régions géniques étudiées, diminution du délai de rendu de résultat et réduction du coût d'analyse d'environ 30%.

**Mots-clefs :** hémochromatose, séquençage haut-débit, Ampliseq

## Innovations technologiques

**C068/#535**

### Diagnostic de la mucoviscidose par PCR multiplex et séquençage de nouvelle génération

SAID EL MOUATASSIM (1)

1. Génétique, BIOMNIS, Lyon, France

**Auteur correspondant :** EL MOUATASSIM SAID  
(said.elmouatassim@biomnis.com)

La mucoviscidose est une maladie génétique autosomique récessive causée par des mutations du gène CFTR impliqué dans la régulation du flux hydro-électrolytique transmembranaire. La maladie affecte les poumons, le tractus digestif, les glandes sudoripares et l'appareil reproducteur chez les hommes. Plus de 1800 mutations du gène CFTR sont répertoriées. Une grande hétérogénéité génétique et clinique est rencontrée en fonction des origines ethniques des patients.

Les trousse de diagnostic commercialisées permettent la détection des mutations CFTR les plus fréquentes qui couvrent environ 80% des mutations responsables de mucoviscidose classique.

Le séquençage de Sanger permet le criblage de la totalité de la séquence codante du gène et offre une meilleure détection de l'ensemble des mutations du gène CFTR. La technologie demeure, cependant, lourde et onéreuse.

Nous décrivons une étude pilote basée sur le séquençage nouvelle génération (NGS : MiSeq, Illumina) comprenant 70 patients et 7 échantillons de contrôles externe de qualité. Cette étude par NGS utilisant la trousse Nextera XT (Illumina) permet, après une PCR multiplex de 32 amplicons, l'analyse simultanée : des régions 5' et 3'UTRs, des 27 exons CFTR et des régions introniques impliquées dans l'épissage alternatif du gène CFTR [jonctions introniques flanquantes des 27 exons et les mutations de l'intron 19 (3849+10kbC>T) et de l'intron 11 (1811+1.6kbA>G)].

L'analyse des critères de qualité (reproductibilité, répétabilité, robustesse et de sensibilité) ont montré la conformité de la technologie NGS. Tous les résultats ont été comparés et ré-analysés par séquençage de Sanger. Aucune discordance n'a été observée entre la technologie NGS et la méthodologie de référence. L'approche NGS est en mesure d'identifier tous les types de mutations, y compris des variants polymorphes avec un taux de couverture de 98% des mutations du gène CFTR. Cette approche est sensible, spécifique et moins coûteuse mieux adaptée au diagnostic de la mucoviscidose. Cette technologie devrait être facilement adoptée par les laboratoires de diagnostic moléculaire de routine.

**Mots-clefs :** Mucoviscidose, CFTR, Séquençage de nouvelle génération

## Innovations technologiques

C069/#536

### Apport de la capture ciblée et du séquençage à haut débit pour le diagnostic moléculaire des Cardiomyopathies et Troubles Rythmiques héréditaires.

Pascale Richard (1), Nadia Aoutil (2), Céline Ledeuil (2), Claire Perret (3), Véronique Fressart (1), Nadjim Chelghoum (4), David Alexandre Tregouet (5), Eric Villard (5), Philippe Charron (6)

1. AP-HP, Hôpitaux Universitaires de la Pitié-Salpêtrière- Charles Foix, UF Cardiogénétique et Myogénétique, UMRS\_1166, Equipe Génomique et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires, Université Pierre et Marie Curie, Institut de Cardio-métabolisme et N, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France

2. Unité fonctionnelle de Cardiogénétique et Myogénétique, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France

3. UMRS\_1166, Equipe Génomique et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires, Université Pierre et Marie Curie, Institut de Cardio-métabolisme et Nutrition (ICAN), Paris, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Paris, France

4. Plateforme Post Génomique de la Pitié Salpêtrière (P3S), 91 boulevard de l'Hôpital, 75013 PARIS, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Paris, France

5. UMRS\_1166, Equipe Génomique et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires, Université Pierre et Marie Curie, Institut de Cardio-métabolisme et Nutrition (ICAN), Paris, (F-75013), Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Paris, France

6. AP-HP, Département de génétique, Hôpitaux Universitaires de la Pitié-Salpêtrière- Charles Foix, Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, UMRS\_1166, Equipe Génomique et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires, Université Pierre et Marie Curie, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France

**Auteur correspondant** : Richard Pascale (pascale.richard@psl.aphp.fr)

**Introduction:** Les pathologies cardiaques héréditaires de transmission dominante présentent une hétérogénéité génétique importante. Leur prévalence (de 1/500 à 1/5000) et le risque associé de mort subite, justifient le besoin d'un séquençage exhaustif des gènes. Nous avons évalué la technique de capture ciblée suivie d'un séquençage haut-débit (NGS) pour le diagnostic moléculaire.

**Méthode:** Nous avons testé la capture à façon de 76 gènes de cardiomyopathies et arythmies (exons et jonctions, 0.6Mb) avec le système SeqCap EZ Library (Nimblegen-Roche). Les ADNs sont multiplexés par 6 avant capture puis séquencés après multiplexage par 12 par ligne sur Rapid Flow Cell (HiSeq2500). Les séquences générées ont été alignées sur le génome de référence (hg19) avec le logiciel BWA. Une série de 36 patients dont 10 témoins porteurs de mutations connues a ensuite été analysée.

**Résultats:** 98% des régions génomiques ciblées sont couvertes avec une profondeur supérieure à 1500 reads avec une couverture plus faible des régions riches en GC (300x à 1000X). La reproductibilité entre les ADNs permet une détection du nombre de copies (CNVs) avec les outils informatiques adaptés.

Dix patients porteurs de diverses mutations dans les gènes MYBPC3, LMNA, FHL1, KCNH2, PKP2 + DSP et SCN5A ont été testés. Les mutations résultant d'une substitution d'un nucléotide (SNV) et les petites insertions/délétions sont toutes identifiées. Une substitution faussement homozygote en Sanger a été confirmée comme hétérozygote. Les remaniements plus larges (MYBPC3: c.3659\_3662delins9, KCNH2 : p.Arg883AlafsX87) sont bien observés à partir des séquences alignées mais ne sont pas détectés par les outils classiques de détection de SNVs. Les délétions supérieures à 10 nt (MYBPC3: c.984\_1054del) s'observent comme des pertes d'hétérozygotie sur les séquences alignées mais ne sont pas détectées par les outils de détection de SNVs.

Vingt six patients sans mutation retrouvée après séquençage Sanger ont été analysés. Quatorze (60%) présentent un seul variant potentiellement pathogène, et pour 2 patients, deux variants pourraient être mis en cause. Chez 7 patients (30%), aucune mutation candidate n'a été retrouvée. Pour ces patients, une analyse plus fine des données générées à partir d'outils plus adaptés à l'identification des grands CNVs est en cours. Chez 3 patients (10%) l'analyse technique

n'a pas été validée du fait d'une couverture insuffisante des régions d'intérêt. Le recrutement des apparentés destinés à l'analyse de coségrégation familiale pour confirmer la pathogénicité des mutations est en cours.

**Conclusion:** La technique d'analyse des gènes par capture ciblée puis séquençage à haut débit nécessite de multiples compétences, un diagnostic clinique précis, la connaissance des gènes, une optimisation de la technologie moléculaire et des analyses bioinformatiques. Son utilisation diagnostique semble prometteuse de par sa sensibilité, sa spécificité et son coût réduit.

**Mots-clefs** : Cardiomyopathies héréditaires, Arythmies Héréditaires, Séquençage à haut débit

## Innovations technologiques

C070/#556

### Automated Extraction of gDNA from Large Volume Samples

Eric Vincent (1)

1. RD, Promega Corp, Madison, USA

**Auteur correspondant** : Vincent, Ph.D Eric (eric.vincent@promega.com)

High throughput genomics labs require automated systems that provide more than simple execution of chemistry. To meet these needs we have focused on utilizing a standard hardware platform, graphical user interfaces, and expanded sample input options. The Freedom EVO®- HSM workstation provides a flexible and robust solution across a range of samples. Users can extract DNA from whole blood, blood fractions, or saliva samples with minimal differences in their workflow.

**Mots-clefs** : automated systems, Extract dna, Platform

## Innovations technologiques

C071/#564

### Transformation du diagnostic des formes axonales et motrices pures de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) par la stratégie AmpliSeq sur séquenceur NGS Proton

ANNE-SOPHIE LIA (1), MARION LAFERE (2), CORINNE MAGDELAINE (1), JEAN-MICHEL VALLAT (3), FRANCK STURTZ (1), BENOIT FUNALOT (1)  
1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Limoges, LIMOGES, France  
2. EA6309, Faculté de Médecine de Limoges, LIMOGES, France  
3. Service et Laboratoire de Neurologie, Centre de Référence « neuropathies périphériques rares », CHU de Limoges, LIMOGES, France

**Auteur correspondant :** LIA ANNE-SOPHIE (asliabaldini@unilim.fr)

Les neuropathies périphériques de type Charcot-Marie-Tooth (CMT) sont les plus fréquentes maladies neuro-musculaires d'origine génétique (prévalence 1/2500). De nombreux gènes (plus de 50 actuellement) ont été impliqués dans les différentes formes de la maladie (démyélinisante, axonale, intermédiaire, motrice pure...), avec des modes de transmission variables. L'hétérogénéité génétique de ce syndrome complique le diagnostic moléculaire, qui se réalise classiquement par séquençage Sanger en suivant des arbres décisionnels. Dans les formes axonales, la recherche du gène muté s'avère infructueuse chez environ 2/3 des patients, les gènes décrits comme rarement mutés n'étant pas systématiquement testés.

Afin d'identifier de façon plus efficace les mutations responsables de formes génétiquement très hétérogènes de CMT, nous avons adapté la stratégie AmpliSeq (LifeTech), habituellement utilisée sur le PGM (IonTorrent-LifeTech), sur un séquenceur Proton. Nous avons ainsi créé un design de 1402 amplicons, couvrant les 37 gènes (120 kb) que nous avons répertoriés comme impliqués dans les formes intermédiaires, axonales et motrices pures de CMT.

Un échantillon de 40 patients est en cours d'analyse, parmi lesquels 8 contrôles positifs (mutations déjà identifiées par technique Sanger dans des gènes variés) et 32 patients sans mutations dans les gènes les plus fréquemment impliqués dans les formes axonales ou motrices pures. La stratégie d'étiquetage nous permet d'analyser l'ADN de 8 patients en une seule expérience. 98,9% des séquences ciblées sont lues plus de 200 fois par patient.

L'analyse par le logiciel Ion Reporter nous a permis de détecter aisément 7 des 8 contrôles positifs. Le 8e, localisé dans un homopolymère de 6 répétitions, bien que lu correctement lors du séquençage via le Proton, n'a pas été mis en évidence lors de l'analyse par défaut réalisée par le serveur du Proton. Un paramétrage spécifique des logiciels d'analyse est donc nécessaire pour la mise en évidence de mutations localisées dans les homopolymères. L'analyse des patients d'intérêt, nous a permis de découvrir de nouveaux variants dans la moitié des cas. Ces variants, trouvés dans différents gènes tels que REEP1, AARS, SETX, IGHMBP2, DCTN1, INF2, TRPV4, PLEKHG5, etc ..., sont actuellement en cours de reséquençage Sanger et d'analyse de ségrégation afin de vérifier leur effet délétère suspecté.

Ces résultats montrent la faisabilité et la pertinence de la stratégie AmpliSeq sur le séquenceur Proton pour le diagnostic moléculaire des formes axonales et motrices pures de CMT. La capacité de ce séquenceur nous permettra dans un second temps, pour les familles sans mutation(s) identifiée(s) par les techniques de séquençage ciblé, d'effectuer le séquençage de l'exome chez 2 ou 3 apparentés soigneusement choisis, afin de tenter d'identifier la mutation causale de la maladie. Le gène identifié pourra alors être ajouté au panel de gènes déjà testés en séquençage ciblé.

**Mots-clefs :** Charcot-Marie-Tooth: formes axonales et motrices pures, Stratégie AmpliSeq sur le séquenceur NGS Proton, Diagnostic

## Innovations technologiques

C072/#565

### Mise en place et validation du criblage des prédispositions au cancer colorectal en utilisant un enrichissement PCR multiplex sur Ion Torrent PGM

Cédric Lefol (1), Julien Tarabeux (1), Bruno Zeitouni (2), Anthony Laugé (3), Séverine Lair (2), Christophe Guy (3), Florence Copigny (3), Quentin Leroy (4), Kadhija Abidallah (3), Henrique Tenreiro (3), Lisa Golmard (3), Virginie Moncoutier (3), Nicolas Servant (3), Thomas Rio Frio (4), Claude Houdayer (3), Dominique Stoppa-Lyonnet (3), Etienne Rouleau (1)  
1. Génétique, Institut Curie, PARIS, France  
2. INSERM U900, Mines Paris Tech, centre de recherche, Institut Curie, Paris, France  
3. Génétique, Institut Curie, Paris, France  
4. Next generation sequencing platform, centre de recherche, Institut Curie, Paris, France

**Auteur correspondant :** ROULEAU Etienne (etienne.rouleau@curie.fr)

#### CONTEXTE

La prédisposition au cancer colorectal comprend soit le syndrome de Lynch (4 gènes), soit la polypose adénomateuse familiale (2 gènes). Nous avons développé et validé un processus diagnostique sur le Ion Torrent PGM (Life technologies) basé sur le séquençage de ces gènes sur la base du kit HNPCC et FAP kit MASTR (Multiplicom).

#### MATERIEL ET METHODE

Le processus a été testé sur 24 échantillons provenant de patients avec une suspicion de syndrome de Lynch et 16 échantillons provenant de patients atteints d'un syndrome de polypose atténuée. Toute altération a été séquencée et une comparaison a été réalisée en parallèle avec la méthode qPCR-HRM. Les variants présents avaient préalablement été détectés par qPCR-HRM et/ou séquençage Sanger direct. Il a été ensuite étudié 16 échantillons provenant de patients avec suspicion de syndrome de Lynch et 8 de patients atteints de syndrome de polypose atténuée. Toutes les données ont été analysées avec le module NextGene et un algorithme bioinformatique a été développé pour détecter les grands réarrangements.

#### RÉSULTATS

Tous les variants délétères ont été détectés y compris les grands réarrangements. Les difficultés ont été observées principalement avec des variants homozygotes, les régions pseudogéniques de PMS2 et variants indels dans les régions avec des homopolymères. En plus de mutants déjà identifiés, deux mutations délétères ont été identifiées dans PMS2 et le gène APC, alors que le dépistage était réalisé en parallèle. Sur la série en routine, il a été détecté un cas de faux positif sur le gène MUTYH dû à la position des amorces. Les avantages et les limites de l'approche seront discutés.

#### CONCLUSIONS

En comparaison avec qPCR-HRM, l'approche PGM-Multiplicom offre un processus de génotypage efficace sur les mutations ponctuelles et les grands réarrangements. En étudiant en parallèle un large panel de gènes, cette nouvelle approche pourrait apporter aussi un gain de temps en cas d'informations tumorales limitées (polypose atténuée ou absence de données moléculaires disponibles).

**Mots-clefs :** Ion Torrent, Lynch Syndrome, Polypose familiale

## Innovations technologiques

C073/#578

### Séquençage NGS des gènes BRCA à visée diagnostique : réduction des temps de production en amont et d'analyse en aval

Axel Poulet (1), Maud Privat (1,2), Sandrine Viala (1), Stephanie Decousus (1), Laurence Lafarge (1), Axel Perin (1), Flora Ponelle (1), Nancy Uhrhammer (1), Yves-Jean Bignon (1,2), Yannick Bidet (2)

1. Département Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont Ferrand, France  
2. EA4677 ERTICA, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** Bidet Yannick (yannick.bidet@udamail.fr)

Comparés à la technique de Sanger qui sert aujourd'hui de référence, les séquenceurs de nouvelle génération présentent des débits et des coûts particulièrement avantageux pour une qualité désormais au moins égale, voire supérieure. Les qualités de ces appareils les ont donc progressivement conduits à être utilisés à des fins diagnostiques. Or les capacités des laboratoires de diagnostic à préparer les échantillons en amont n'ont pas progressé de manière parallèle et ce point peut aujourd'hui représenter un goulet d'étranglement dans la vitesse de rendu des résultats. À l'autre bout de la chaîne, chaque « run » sur un séquenceur de nouvelle génération produit une masse de données dont l'analyse s'avère particulièrement longue et fastidieuse. La plateforme GINA du Centre Jean Perrin a mis en place, pour le laboratoire de diagnostic qui lui est associé, deux outils levant partiellement ces deux limitations. Ces outils sont associés aux Genome Sequencers de Roche (GS-FLX ou GS-Jr) mais peuvent s'appliquer à d'autres systèmes.

1- La technologie Access Array développée par Fluidigm permet l'amplification simultanée de 48 amplicons pour 48 patients, en réalisant 2304 nano-PCR individuelles. Le design élaboré sur la PF permet une amplification robuste et uniforme de toute la partie codante d'un gène BRCA sur une Access Array. La réalisation de 2 puces en une journée permet donc d'amplifier la partie codante des gènes BRCA1 et BRCA2 pour 48 patients. Ce nombre remplit un « run » de GS-FLX dans des conditions satisfaisantes.

2 – Après la production des données brutes, les logiciels fournis par Roche permettent l'alignement des séquences sur une référence et la détection des variants. Cette détection est cependant très imparfaite et incompatible avec un rendu diagnostique. La PF GINA a donc développé un logiciel de détection, d'annotation et de classification des variants, compatible avec les exigences diagnostiques. Le bilan des échantillons normaux est réalisé de manière automatique et seuls les variants à vérifier sont mis en avant. Dans le cas spécifique de variants détectées dans des homopolymères (dont la lecture est problématique avec la technologie 454), un graphique est proposé à l'utilisateur afin de l'aider à trancher sur la validité ou non du variant.

Nos résultats sur 84 patients montrent que notre logiciel a permis la détection de tous les variants identifiés par la technique de Sanger, dans un temps divisé par environ 10 par rapport à l'analyse manuelle. Ces 2 outils lèvent une partie des freins en amont et en aval de la production des données et rendent aux NGS leur caractère haut débit, y compris en usage diagnostique. Leur partage avec différents laboratoires pourra être discuté au cas par cas autour du poster.

**Mots-clés :** Cancer mammaire héréditaire, Gènes BRCA, Séquençage NGS

## Innovations technologiques

C074/#617

### Mise en place du séquençage de nouvelle génération pour le diagnostic des maladies héréditaires au sein du service de biochimie et génétique moléculaire du GH Hôpitaux Universitaires Paris Centre

Eric Pasmant (1), Thierry Bienvenu (1), Audrey Briand (1), Armelle Luscan (1), Cyril Burin des Rozières (1), Chrystel Leroy (1), Philippe Goussard (1), Emmanuelle Girodon (1), Kémal Azibi (1), Béatrice Parfait (1), Jamel Chelly (1), Marie-Odile North (1), Marc Jeanpierre (1), Laurence Cuisset (1), Juliette Nectoux (1), Chérif Beldjord (1), France Leturcq (1), Sophie Valleix (1), Eric Clauser (1), Nadim Hamzaoui (1), Catherine Costa (1), Catherine Dodé (1), Michel Goossens (1), Dominique Vidaud (1), Franck Letourneur (2), Marc Delpech (1), Michel Vidaud (1)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpitaux Universitaires Paris Centre (HUPC), Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France

2. Institut Cochin; Inserm, U1016, CNRS, UMR8104, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Auteur correspondant :** Pasmant Eric (eric.pasmant@gmail.com)

Les données du séquençage du génome humain ont conduit à identifier au cours de ces dix dernières années un nombre considérable de variations dans des gènes responsables de maladies héréditaires. Le diagnostic s'en est ainsi trouvé particulièrement compliqué. Les technologies de séquençage nouvelle génération (NGS, Next Generation Sequencing) bouleversent les stratégies de diagnostic moléculaire. Un partenariat AP-HP – INSERM a permis la création en 2012 d'une plateforme NGS au sein de notre service en lien avec les unités de recherche de l'Institut Cochin. Le NGS ciblé par amplification (design Ampliseq, Lifetechnologies) est actuellement en cours de validation pour les approches de diagnostic moléculaire intéressant les différentes filières de santé maladies rares (amyloses, maladies neuro-musculaires, maladies rares avec déficience intellectuelle, maladies endocriniennes, anomalies du développement, maladies dermatologiques, maladies métaboliques, maladies hémorragiques constitutionnelles, mucoviscidose, maladies sensorielles et maladies auto-immunes) et l'oncogénétique constitutionnelle. Sont concernés :

- le diagnostic de maladies monogéniques par la recherche simultanée de mutations ponctuelles et de délétions/duplications des gènes impliqués dans la mucoviscidose, les myopathies de Duchenne et de Becker, la dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale, les hémophilies A et B et la neurofibromatose de type 1 ;

- le diagnostic de maladies à hétérogénéité génétique par l'étude simultanée de plusieurs dizaines de gènes impliqués dans les myopathies des ceintures, les syndromes de Rett, l'encéphalopathie épileptique, les hypogonadismes hypogonadotropes, les insuffisances ovariennes précoces, les vitéo-rétinopathies héréditaires, les pancréatites chroniques, les cholestases familiales et les anomalies du métabolisme phosphocalcique ;

-le diagnostic prénatal non invasif des maladies héréditaires par étude de l'ADN fœtal circulant ;

-le diagnostic de prédisposition héréditaire aux cancers (cancer colorectal héréditaire non polyposique, polyposes coliques héréditaires, tumeurs endocrines héréditaires, neurofibromatose de type 2, schwannomatose).

Ces différents panels étudiés par NGS incluent plus de 170 gènes différents, couvrant 500 kb de génome. L'analyse des très nombreuses données générées a nécessité l'acquisition d'outils informatiques adaptés et la formation des biologistes pour l'interprétation des données de séquençage. La mise en place du NGS au sein de notre service, en remplacement des nombreuses approches existantes, est en passe d'améliorer considérablement le diagnostic génétique moléculaire en termes d'efficacité, de délais de rendu de résultats et de coût.

**Mots-clés :** Séquençage de nouvelle génération NGS, Diagnostic moléculaire, Maladies héréditaires



**Innovations technologiques****C075/#618****Diagnostic moléculaire de la neurofibromatose de type 1 par séquençage nouvelle génération**

Eric Pasmant (1), Armelle Luscan (1), Audrey Briand (1), Philippe Goussard (1), Ingrid Laurendeau (2), Pierre Wolkenstein (3), Béatrice Parfait (1), Michel Vidaud (1), Dominique Vidaud (1)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France  
2. UMR\_S745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France  
3. Département de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France**Auteur correspondant :** Pasmant Eric (eric.pasmant@gmail.com)

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est l'une des maladies héréditaires parmi les plus fréquentes chez l'homme (1 naissance sur 3 000 ; 20 000 patients atteints en France). Ce syndrome de prédisposition tumorale résulte de mutations constitutionnelles hétérozygotes de type perte de fonction du gène suppresseur de tumeur NF1 (Neurofibromin 1) également retrouvé muté au sein de nombreux types tumoraux, hors du cadre de la NF1. Le gène NF1, localisé en 17q11.2 est un grand gène qui s'étend sur plus de 300 kb, comporte 60 exons codants et plusieurs pseudogènes. La plupart des patients atteints de NF1 présentent des mutations privées distribuées sur l'ensemble du gène, sans point chaud de mutation. Des mutations perte de fonction du gène SPRED1 ont été décrites chez quelques rares patients présentant un phénotype NF1 peu sévère sans mutations du gène NF1 (syndrome de Legius). Le gène SPRED1 comme le gène NF1, codent des protéines inhibitrices de la voie RAS MAPK. Un partenariat AP-HP – INSERM a permis la création en 2012 d'une plateforme NGS sur laquelle nous avons développé le séquençage ciblé des gènes NF1 et SPRED1. Le panel d'amorces pour l'amplification de l'ensemble des régions codantes des gènes NF1 et SPRED1 a été dessiné avec le logiciel en ligne AmpliSeq Designer (Lifetechnologies). La région ciblée (~15 kb) est amplifiée en 141 amplicons d'environ 200 pb (125 à 275 pb) en trois PCR multiplex à partir de 30 ng d'ADN génomique. Une couverture théorique de 99,7% est ainsi obtenue et seul l'exon 1 du gène SPRED1 (riche en GC) est incomplètement couvert par le design. Les échantillons correctement amplifiés par la PCR en émulsion sont déposés sur des puces et chargés sur un séquenceur de type PGM (Lifetechnologies). La capacité des puces de format 316 permet le multiplexage de 48 patients avec une profondeur de séquençage moyenne de 150X. La détection et la visualisation des variants sont réalisées grâce aux logiciels Variant Caller (Lifetechnologies), Integrated Genomics Viewer (IGV, Broad Institute) et Nextgene (Softgenetics). Cette approche NGS a été validée par le séquençage de 50 échantillons présentant des mutations connues de NF1 et SPRED1. Les différents outils bioinformatiques ont détecté tous les types de mutations (substitutions nucléotidiques, courtes insertions/délétions et délétions d'un ou plusieurs exons voire du gène entier). Le séquençage prospectif de plus de 400 patients atteints de NF1 a confirmé l'apport du NGS dans la pratique de diagnostic moléculaire de routine avec un taux de détection des mutations de 97%. Les mutations ainsi identifiées sont systématiquement vérifiées par une deuxième méthode (Sanger, MLPA). L'implémentation du NGS au sein de notre service, en remplacement des approches existantes, a permis l'amélioration du diagnostic génétique moléculaire de la neurofibromatose de type 1 et des syndromes apparentés en termes de délais de rendu de résultats, d'efficacité et de coût.

**Mots-clés :** Neurofibromatose de type 1, NF1, Séquençage nouvelle génération, NGS, Diagnostic moléculaire**Innovations technologiques****C076/#699****Séquençage nouvelle génération (NGS) et pharmacogénétique appliquée à l'hémostasie**  
**Sequencing next generation (NGS) and pharmacogenetics applied to hemostasis**Laurence Pellegrina (1), Evelyne Fayolle (1), Said El Moutassim (1)  
1. Service de génétique, Biomnis, Lyon, France**Auteur correspondant :** Pellegrina Laurence (laurence.pellegrina@biomnis.com)**Introduction :**

Les traitements par antivitamin-K (AVK) et thiénoxydines (clopidogrel) utilisés en hémostasie présentent une variabilité de sensibilité intra- et interindividuelle importante. Cette variabilité est due à des facteurs physiopathologiques, environnementaux et génétiques. Parmi différents polymorphismes décrits, plusieurs sont associés à une hypersensibilité ou une résistance partielle ou complète à ces molécules : il s'agit pour les AVK des mutations des gènes VKORC1 et CYP2C9 et pour le clopidogrel des gènes CYP2C19 et P2Y12. Nous montrons ici les résultats des essais réalisés pour mise en place de la recherche de ces polymorphismes par séquençage en NGS.

**Matériel et méthodes :**

Extraction manuelle : trousse QIAGEN blood mini Kit

Amorces : design « maison »

Techniques de séquençage direct : séquençage nouvelle génération sur MiSeq (Illumina) avec utilisation du kit Nextera XT (Illumina) versus méthode de Sanger sur 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Les résultats ont été également comparés à de 2 centres de référence (France kit commercial et Allemagne séquençage classique).

Mutations recherchées AVK : 7 échantillons d'ADN de résultats connus sauvages et mutés

VKORC1 : -1639 G&gt;A (rs 9923231) et 1173C&gt;T (rs 9934438) en déséquilibre de liaison

CYP2C9 : allèle 2 p.Arg 144 Cys (c.430 C&gt;T rs1799853) et allèle 3 p.Ile 359 Leu (c.1075 A&gt;C rs1057910)

Mutations recherchées clopidogrel : 5 échantillons d'ADN de résultats connus sauvages et mutés

CYP2C19 : allèle 2 g.24154G&gt;A (c.681G&gt;A rs4244285) et allèle 3 g.22948 G&gt;A (c.636G&gt;A rs 4986893)

CYP2C19 : allèle 17 g.4195C&gt;T (c.-806C&gt;T rs 12248560)

P2RY12 : g.49903C&gt;T ( i-T744C rs2046934)

**Résultats :**

Les résultats sont comparés entre les 2 séquençages sur site (Sanger et NGS) et en parallèle à 2 laboratoires de référence (France AP-HP et Allemagne Dortmund).

-Mutations VKORC1, CYP2C19 et P2Y12 : résultats strictement concordants quelles soient les techniques. Pour le séquençage P2Y12, nous avons également trouvé 2 mutations g.50947TG (pour l'ADN 9) et g.50947GG et 1387 C&gt;T (pour l'ADN 10), mutations également décrites dans certains cas de résistance au clopidogrel.

-Mutations CYP2C9 : découverte de 2 échantillons discordants (\*2\*2 versus \*1\*2 et \*2\*3 versus \*1\*2). Nous discuterons ici de ces discordants (essais complémentaires réalisés) et des pistes d'explications. A noter également sur un autre échantillon \*1\*1 (homozygote sauvage) la présence du polymorphisme SNP c.429C&gt;T, décrit comme possible interférent sur la position 430 (fausse positivité \*2).

**Conclusion :**

Les premiers essais réalisés de séquençage en NGS pour les mutations VKORC1, CYP2C9, CYP2C19 et P2Y12 sont satisfaisants et corrélés aux autres techniques de séquençage. Nous relevons en revanche 2 discordants pour le CYP2C9 entre les 3 centres (mais concordants entre NGS et séquençage Sanger sur notre site). D'autres essais sont en cours de complément.

**Mots-clés :** NGS, pharmacogénétique, AVK et thiénoxydines

## Innovations technologiques

C077/#769

### Détection simultanée des mutations ponctuelles et des grands remaniements du gène de la dystrophine par séquençage nouvelle génération

Juliette Nectoux (1,2), Gilles Tafuri (1), Audrey Briand (1), Armelle Luscan (1,3), Cyril Burin des Roziers (1), Eric Pasmant (1,3), Dominique Vidaud (1,3), Franck Letourneur (2), Marc Delpech (1), Michel Vidaud (1,3), France Leturcq (1,4)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, HUPC Hôpital Cochin, Paris, France

2. INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France

3. UMR\_S745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France

4. Institut de Myologie, U76 - UPMC Univ. Paris 6 / U974 - Inserm / UMR7215 – CNRS, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** leturcq france (france.leturcq@inserm.fr)

Les dystrophies de Duchenne et de Becker sont des maladies neuromusculaires dues à une mutation du gène DMD, situé en Xp21, codant pour la dystrophine. Elles se transmettent sur un mode récessif lié à l’X et leur incidence est évaluée à 1 sur 4 000 naissances de garçons. Des grands remaniements (délétion ou duplication d’un ou plusieurs exons) sont identifiés dans 70% des cas, les autres remaniements génétiques comprenant des mutations ponctuelles et des petites indels (25% des cas) ainsi que des mutations d’épissage (5% des cas).

Le service de Biochimie et Génétique moléculaire du Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel Dieu-Broca représente l’un des deux laboratoires de référence français pour le diagnostic des dystrophinopathies. Actuellement la séquence diagnostique la plus fréquente consiste en i/ la recherche de grands remaniements par puce de CGH et ii/ la recherche de mutations ponctuelles par séquençage Sanger des 79 régions exoniques du gène DMD. Cependant, ces méthodes s’avèrent à la fois chronophages et coûteuses. Un partenariat AP-HP – INSERM a permis la création en 2012 d’une plateforme NGS au sein de notre laboratoire. Un panel NGS DMD ciblé par amplification (design Ampliseq, Life Technologies®) a été designé, afin de permettre l’analyse simultanée des mutations ponctuelles et des grands remaniements du gène DMD aussi bien chez les hommes atteints que chez les femmes à risque. Le séquençage ciblé des 150 amplicons couvrant les 14 kb de régions codantes du gène DMD pour 16 patients sur une puce 316 permet d’obtenir une profondeur de lecture moyenne de 500X (PGM Ion Torrent, Life Technologies®). Vingt-neuf patients porteurs d’une anomalie connue (21 grands remaniements et 8 mutations ponctuelles) ont été testés par cette approche. Au total, 95% des grands remaniements et 87% des mutations ponctuelles ont été correctement identifiés. Cette technique est d’ores et déjà entrée dans notre démarche diagnostique, en complément de la CGH et du séquençage Sanger des huit exons mal couverts. Un nouveau panel constitué d’un plus grand nombre d’amplicons, ciblant notamment les régions difficiles à séquencer, est actuellement en cours de validation et devrait permettre à court terme i) de détecter tous les grands remaniements, et donc de s’affranchir de l’étape de CGH et ii) de mieux couvrir les exons restants, évitant ainsi le re-séquençage Sanger des exons mal couverts.

**Mots-clefs :** NGS, DMD, grands remaniements

## Génétique des populations et maladies complexes

C078/#8

### Puissance de détection d’association dans les études génome entier: Etude comparative entre les méthodes classiques et un modèle général permettant de tester le modèle génétique sous-jacent.

ANNE DEGAVRE (1), Marie-Hélène DIZIER (2), CECILE JULIER (1), FLAVIE MATHIEU (1), Anne PHILIPPI (1)

1. INSERM UMR-S958, INSERM, PARIS, France

2. INSERM UMR-S946, INSERM, PARIS, France

**Auteur correspondant :** MATHIEU FLAVIE (Flavie.Mathieu@inserm.fr)

**Introduction:** Dans les études d’association cas-témoins génome entier (GWAS), la proportion de variants génétiques ayant un effet additif, récessif ou dominant est inconnue. Afin de limiter le nombre de tests, le test d’association souvent choisi est le test de comparaison des fréquences alléliques, sensible aux écarts à l’équilibre d’Hardy-Weinberg. Afin de s’affranchir de cette contrainte, le Cochran-Armitage trend test (CAT) a été recommandé pour faire les études d’association. Ce test est modèle dépendant et, en absence de connaissance du modèle génétique, le modèle additif est utilisé. Cependant, ce test est sensible à une mauvaise spécification du modèle. Nous proposons d’utiliser un modèle régressif général (GRM) qui permet à la fois de tester la présence d’association génétique (sans faire d’hypothèse a priori sur le modèle de transmission) et de tester le modèle de transmission du variant.

**Objectif :** Comparer la puissance de détection d’association du test GRM à celle du test CAT et ré-analyser les données du consortium WTCCC afin d’identifier de nouvelles régions candidates.

**Méthode:** L’étude de puissance a été effectuée sur deux types d’échantillons: un échantillon de 300 cas et 300 témoins (1 000 000 de répliques) et un échantillon de 1000 cas et 1000 témoins (100 000 répliques). Différentes situations ont été simulées : 3 prévalences de maladies (1%, 5% et 10%), plusieurs fréquences alléliques pour le variant (0,2 ; 0,3 ; 0,4), différents effets du variant (Odds-Ratio entre 1,2 et 4), sous différents modèles de transmission (récessif, dominant et additif).

Les données simulées ont été ensuite analysées en utilisant le test GRM et le test CAT, sous les 3 modèles (CAT\_ADD pour additive, CAT\_DOM pour dominant et CAT\_REC pour récessif), afin d’estimer la puissance de chacun de ces tests pour détecter l’association aux seuils de significativité de 5%, 1% et 10-5.

**Résultats:** Bien que le test GRM ait un degré de liberté de plus que le modèle CAT\_ADD, la puissance de détection des deux modèles est similaire lorsque le modèle simulé est additif ou dominant. Par contre, lorsque le modèle simulé est récessif, le modèle GRM est plus puissant que le modèle CAT\_ADD, la différence de puissance allant jusqu’à 30% au seuil de significativité de 5%, 40% au seuil de 1% et plus de 50% au seuil de 10-5. Le test du modèle génétique permet de conclure au modèle simulé dans la plupart des cas. Les données de 2000 patients atteints de diabète de type 1 et de 2000 témoins du consortium WTCCC seront ré-analysées en utilisant le test GRM.

**Conclusion:** Nous recommandons d’utiliser le test GRM à la place du test CAT\_ADD pour les GWAS. La ré-analyse des données de GWAS existantes devrait permettre de détecter de nouveaux variants, non détectés par les autres méthodes, et de définir leur mode de transmission.

**Mots-clefs :** , ,

## Génétique des populations et maladies complexes

C079/#20

### Caractérisation de variants alléliques codant pour des cytochromes impliqués dans une forme rare de résistance au traitement anti-plaquettaire par prasugrel

Mathieu Fiore (1), Alice Horovitz (2), Anne-Cécile Pons (1), Lionel Leroux (3), Frédéric Casassus (3)

1. Laboratoire d'Hématologie, CHU de Bordeaux, Pessac, France
2. Service de Cardiologie et de Médecine Vasculaire, CHU de Bordeaux, Pessac, France
3. Unité de Soins Intensifs de Cardiologie, CHU de Bordeaux, Pessac, France

**Auteur correspondant :** Fiore Mathieu (mathieu.fiore@chu-bordeaux.fr)

Le cytochrome P450 est une des principales enzymes impliquée dans le métabolisme de nombreux médicaments. Il existe des centaines de cytochromes différents répartis notamment en isoenzymes distinctes (CYP). La présence de variants génétiques codant pour ces CYP constitue un des éléments essentiels de la métabolisation de certains médicaments (métaboliseurs rapides, intermédiaires ou lents). Nous rapportons le cas d'un patient de 49 ans ayant présenté une thrombose de stent coronaire, 5 jours après son implantation, malgré une bi-thérapie anti-agrégante bien conduite par aspirine et prasugrel, une thiénopyridine de 3ème génération présentant un effet anti-plaquettaire rapide et puissant. L'évaluation des fonctions plaquettaires par différents tests a permis de mettre en évidence que le patient présentait une résistance isolée au prasugrel. Le génotypage de différents CYP montrait que le patient était porteur d'allèles associés à un mauvais métabolisme du prasugrel par CYP2B6 et CYP2C9. Au total, cette observation illustre le fait qu'une résistance au prasugrel par un défaut de métabolisation peut avoir des conséquences cardiaques sévères et qu'un métabolisme diminué peut-être expliqué par la présence de variants génétiques codant pour des CYP spécifiques.

**Mots-clefs :** prasugrel, thrombose de stent, polymorphismes enzymatiques

## Génétique des populations et maladies complexes

C080/#23

### Estimation génomique de la consanguinité dans les communautés libanaises

Nadine Jalkh (1,2), Anne-Louise Leutenegger (3), Mourad Sahbatou (4), Eliane Chouery-Khoury (1), André Megarbane (1), Jean-Louis Serre (2)

1. unité de génétique médicale, université saint Joseph, Beyrouth, Liban
2. UPRES EA 2493 Pathologie cellulaire et génétique, de la conception à la naissance, Université de Versailles - Saint Quentin en Yvelines UFR des sciences médicales, 78180 Montigny Le Bretonneux, France
3. INSERM U946- Fondation Jean Dausset-CEPH, INSERM U946, Paris, France
4. Fondation Jean Dausset-CEPH, INSERM U946, Paris, France

**Auteur correspondant :** Serre Jean-Louis (jean-louis.serre@uvsq.fr)

Au Liban, des analyses antérieures réalisées évaluaient à 25% le taux d'unions entre cousins germains et à 1.56% ( $0,25 \times 1/16$ ) la consanguinité moyenne  $F(1,2)$ . Cette estimation n'incluait ni le fonds génomique homozygote résultant du hasard de la fécondation, ni la consanguinité diffuse (remote consanguinity) accumulée au fil des générations par des unions récurrentes entre apparentés ou par dérive génétique. En effet, l'estimation de  $F$  ne résultait pas de mesures directes de l'homozygotie mais de la somme des produits entre les divers taux d'unions entre apparentés et de leur coefficients respectifs de parenté, donnés par la formule théorique de Malécot.

En utilisant des puces à ADN porteuses de milliers de SNPs, nous avons mesuré la fraction homozygote du génome chez 165 libanais non apparentés, stratifiés selon leur statut communautaire (chiite, maronite, orthodoxe, sunnite) et généalogique (issus de parents cousins germains ou non apparentés) et chez 112 contrôles panmixtiques issus de la banque de données HapMap(3).

L'analyse de ces contrôles avec les logiciels Affymetrix a permis d'estimer à 1% le fonds génomique homozygote d'une population panmixtique, à 0,6% la consanguinité diffuse chez les libanais réputés non consanguins. Chez les enfants de cousins germains la consanguinité moyenne est égale à 7%, significativement supérieure au  $1/16$  attendu, avec une consanguinité diffuse de 0,8%.

A une échelle plus fine, on a montré que les unions entre cousins germains sont sporadiques chez les chrétiens, ce qui conduit à des taux de consanguinité moyens peu différents de 6,25% alors qu'elles sont récurrentes dans certaines familles musulmanes, ce qui conduit alors à des taux largement supérieurs (entre 8,5 et 9,5%).

En tenant compte du taux de 25% d'unions entre cousins germains et de l'estimation de la consanguinité diffuse,  $F$  est trouvée égale à 2,2% ( $0,75 \times 0,006 + 0,25 \times 0,07$ ), supérieure de 41% par rapport à celle de 1,56% estimée antérieurement.

La consanguinité diffuse estimée à 0,6% ( $1/166$ ) chez les individus réputés non consanguins, est significativement supérieure au  $1/256$  des cousins au troisième degré et, par rapport à une population panmixtique, multiplie par 60 le risque des maladies récessives très rares de fréquences alléliques de l'ordre de  $10^{-4}$ . Ceci explique l'émergence de telles maladies au Liban, non seulement dans des fratries issues de couples apparentés mais aussi, parfois, parmi celles de couples qui ne semblent pas l'être.

Une seconde approche complémentaire, fondée sur le logiciel FEstim(4,5), a classé comme consanguins 14 individus issus de parents non apparentés sur 55 ce qui conduit à une estimation de la consanguinité diffuse proche de la notre (0,065%) et estime à 8,06% la consanguinité moyenne des enfants de cousins germains, d'où une valeur moyenne de  $F$  égale à 2,5% ( $0,75 \times 0,0065 + 0,25 \times 0,0806$ ) peu différente de l'estimation obtenue par la comptabilité directe des zones génomiques homozygotes.

**Mots-clefs :** consanguinité, homozygotie par descendance, puce ADN

## Génétique des populations et maladies complexes

C081/#24

### Etude de phénomène de l'apoptose chez des patients tunisiens atteints de diabète mitochondrial

MOUNA TABEBI (1), IKHLASS HADJSALLEM (2), NAJLA MEZGHANI (3), BOCHRA BENRHOUMA (4), FAYZA FAKHFAKH (5)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine., faculté de médecine de sfax, Sfax., Tunisie
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine., faculté de médecine de sfax, sfax, Tunisie
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine., faculté de médecine de sfax, Sfax., Tunisie
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine., faculté de médecine de sfax, sfax, Tunisie
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine., faculté de médecine de sfax, SFAX, Tunisie

**Auteur correspondant :** TABEBI MOUNA (mounamouna62@yahoo.fr)

Le diabète mitochondrial constitue une entité clinique de connaissance récente caractérisée par une transmission maternelle et une atteinte multiorgane associée à savoir les troubles de l'audition, et même des troubles neurologiques. Les diabètes mitochondriaux sont causés génétiquement par des mutations et des délétions touchant l'ADN mitochondrial (l'ADN mt). Cette atteinte mitochondriale représente une des principales caractéristiques morphofonctionnelles de la mort cellulaire programmée. Ce travail a pour objectif la mise en évidence de l'aspect apoptotique chez des patients diabétiques avec l'étude de l'impact des polymorphismes situés au niveau des gènes impliqués dans la voie intrinsèque de l'apoptose (voie mitochondriale).

Dans ce cadre, nous avons recruté 43 patients chez qui les examens clinique et génétique ont confirmé leur atteinte par le diabète mitochondrial et 50 patients sains. Par une étude histochimique, nous avons mis en évidence un dysfonctionnement dans la chaîne respiratoire : une perte d'activité cytochrome oxydase (COX) mais avec la préservation de l'activité succinate déshydrogénase (SDH), permettant de suggérer la présence d'une pathologie mitochondriale. Le mauvais fonctionnement de cet organe cellulaire a provoqué un déséquilibre membranaire entre les protéines apoptotiques localisées au niveau de la membrane, en faveur des proapoptotiques (Protéines Bax), conduit à un phénomène de mort cellulaire programmée caractérisée par une dégradation caractéristique de l'ADN confirmé par la technique TUNEL. Etant donné l'aspect apoptotique détecté dans les fibres musculaires et, afin de chercher une éventuelle explication pour l'hétérogénéité phénotypique observée, nous avons effectué une analyse par génotypage des SNPs potentiellement fonctionnels dans des gènes impliqués dans la voie mitochondriale, l'analyse des haplotypes construits a permis l'identification d'un haplotype sévère formé par une combinaison de génotypes: Bax-248 (A/G), Bcl2-938 (A/C), TP53R72P (G/C), CASP3-1377(G/C) et CASP9 Q221R(A/G). La gravité de cet haplotype hétérozygote a été confirmée par l'état syndromique du diabète trouvée chez nos patients porteurs de génotypes hétérozygotes et la présence d'un aspect apoptotique au niveau de leurs fibres musculaires. Nous avons suggéré alors que l'apoptose est responsable de l'aspect syndromique du diabète, bien que notre étude soit limitée en raison de la restriction du nombre des patients et des témoins recrutés.

**Mots-clefs :** diabète mitochondrial, ADNmt, apoptose

## Génétique des populations et maladies complexes

C082/#26

### Etude d'association des polymorphismes des gènes intervenant dans le métabolisme des folates avec la toxicité du MTX chez les patients tunisiens atteints de la polyarthrite rhumatoïde

Souhir Chaabane (1), Sameh Marzouk (2), Rim Akrou (3), Mariem Ben Hamad (1), Ahmed Rebai (4), Hela Fourati (3), Zouhir Bahloul (2), Abdellatif Maalej (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
2. Service de Médecine Interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Service de Rhumatologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
4. Unité de Bio-informatique, Centre de Biotechnologie, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Chaabane Souhir (chaabane.souhir@yahoo.fr)

Le méthotrexate (MTX) est le traitement de fond classique le plus prescrit dans la polyarthrite rhumatoïde (PR). Cependant, 40% des patients atteints de PR interrompent le traitement, généralement en raison d'effets indésirables.

Objectif : Notre étude a été menée en vue de chercher une éventuelle association entre les polymorphismes des gènes intervenant dans le métabolisme des folates et la toxicité du MTX.

Dans ce cadre, deux polymorphismes du gène MTHFR (C677T (rs1801133), A1298C (rs1801131)), un polymorphisme du gène MTR (A2756G (rs1805087)), un polymorphisme de répétition au niveau de la région 5'UTR du gène TYMS (TSER\*2/3) et un polymorphisme de délétion de 19 pb du gène DHFR ont été analysés sur un échantillon de la population tunisienne.

Matériel et méthodes : Ce travail a été effectué sur une série de 143 patients atteints de PR, traités par le MTX (7,5 à 20mg /semaine), subdivisés en 62 patients présentant une toxicité au MTX et 81 patients sans toxicité. Le génotypage a été réalisé par la technique de PCR-RFLP utilisant les enzymes de restriction HinfI, MboII et HaeIII. L'analyse des deux polymorphismes de répétition et de délétion a été réalisée par PCR.

L'étude d'association a été évaluée moyennant les tests statistiques (test chi 2 (2\*2), l'odds Ratio avec un intervalle de confiance de 95%) ainsi que la régression logistique binaire.

Résultats : Les résultats trouvés ont montré une association entre le génotype 'TT' du polymorphisme C677T et la survenue de la toxicité du MTX (p=0.004). De même, un effet protecteur de l'allèle 2R du polymorphisme TSER\*2/3 contre la toxicité du MTX a été trouvé (p=0.038).

Par ailleurs, L'application de la régression logistique binaire ont montré une corrélation entre la toxicité du MTX et la dose du MTX administrée d'une part (p= 0.014) et sa voie d'administration d'autre part (p=0.0005). Cependant, aucune association significative n'a été observée pour le polymorphisme A1298C du gène MTHFR, le polymorphisme A2756G du gène MTR et le polymorphisme de délétion du gène DHFR (p> 0.05).

**Mots-clefs :** Polyarthrite Rhumatoïde, Methotrexate, Toxicité



## Génétique des populations et maladies complexes

C083/#30

### Recherche d'association des polymorphismes MICA-210, MICA-250 et MICA 129met/val avec la susceptibilité à la Polyarthrite Rhumatoïde dans la population Sud-Tunisienne

Yosr Achour (1), Arwa Kammoun (2), Mariam Ben Hamad (1), Sameh Marzouk (3), Nadia Mahfoudh (2), Zouheir Bahloul (3), Hafedh Makni (2), Abdellatif Maalej (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire d'immunologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Service de Médecine Interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Achour Yosr (achour.yosr@gmail.com)

**Introduction & objectif :** La Polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie multifactorielle relevant de facteurs génétiques et environnementaux. Ces facteurs activent une réponse immunitaire incontrôlée qui se traduit par une réaction inflammatoire exagérée, en particulier au niveau de la membrane synoviale. Le gène MICA codant pour la protéine du CMH (HLA) classe I s'exprime au niveau de la synoviale des patients atteints de PR et constitue un candidat fonctionnel. Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'étude d'association des polymorphismes du gène MICA avec la susceptibilité à la PR dans un échantillon de la population Sud-Tunisienne.

**Matériel & Méthodes :** Cent quarante-deux patients atteints de PR et 123 témoins sains originaires du Sud-Tunisien ont été génotypés pour le marqueur microsatellite MICA-210 (CGT)<sub>n</sub> situé dans la région transmembranaire, le polymorphisme SNP MICA-250 (rs1051794, Lys196Glu) localisé au niveau de la région codante et un SNP dans le codon 129 de l'exon 3 Val129Met (rs1051792) responsable dans la modulation de l'affinité du gène MICA avec le récepteur NKG2D. Le génotypage a été effectué par la méthode de PCR fluorescente pour le marqueur microsatellite MICA-210, la méthode de PCR spécifique d'allèle pour le polymorphisme MICA-250. La taille des amplicons est ensuite déterminée par génotypage fluorescent sur le séquenceur ABI Prism 310. Le marqueur MICA Val129Met a été analysé utilisant la méthode de PCR-RFLP nichée. L'étude d'association est évaluée moyennant les tests statistiques (test chi<sup>2</sup> (2 x 2), l'Odds Ratio (OR) avec un intervalle de confiance de 95 % et le test de déséquilibre de liaison (DL) utilisant le logiciel SHEsis. Ainsi que la régression logistique binaire moyennant le logiciel SPSS 17.0.

**Résultats :** L'analyse multivariée de l'effet génotypique des trois polymorphismes moyennant la régression logistique binaire a montré des valeurs significatives pour MICA-250 et MICA 129Met/Val ( $p = 0,008$  ;  $p = 0,013$ ) respectivement. Cependant, aucune association n'a été trouvée pour le marqueur microsatellite ( $p > 0,05$ ). Par ailleurs, un fort déséquilibre de liaison a été trouvé entre le marqueur MICA-250 et le marqueur MICA 129Met/Val ( $D' = 0,977$ ).

**Conclusion :** Nos résultats plaident en faveur d'un effet de prédisposition des deux polymorphismes MICA-250 et MICA 129met/val dans la susceptibilité à la PR dans notre population.

**Mots-clefs :** MICA, Polyarthrite rhumatoïde, SNP

## Génétique des populations et maladies complexes

C084/#37

### Etude du biais de l'inactivation du chromosome X (XCI) dans la prédisposition féminine aux maladies auto-immunes thyroïdiennes au sein d'une famille Tunisienne multiplexe.

Chabchoub Ghazi (1), Maalej Abdellatif (1), Uz Elif (2), Ayadi Hammadi (1), Abid Mohamed (3), Feki Mouna (3), Ozcelik Tayfun (4)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Département de Génétique et de Biologie moléculaire, Université de Bilkent, Faculté des sciences, Ankara, Turquie
3. Service d'Endocrinologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
4. Département de Génétique et de Biologie moléculaire, Université de Bilkent, Faculté des sciences, Sfax, Turquie

**Auteur correspondant :** Ghazi Chabchoub (ghazi.chabchoub@laposte.net)

Les maladies auto-immunes représentent l'une des principales causes de morbidité dans les pays développés. Leur prévalence globale est de l'ordre de 5% à 10% avec une nette prédominance féminine. Le rapport femme/homme est de 9/1 pour les maladies auto-immunes thyroïdiennes (MAIT). Le biais de l'inactivation du chromosome X est l'une des hypothèses pour expliquer cette prédominance féminine.

Dans ce cadre, nous avons recherché un éventuel biais de l'inactivation du chromosome X chez 46 femmes atteintes de MAIT appartenant à une même famille d'origine Tunisienne.

L'analyse moléculaire a été réalisée par digestion de l'ADN utilisant les enzymes de restriction RsaI et HpaII suivie d'une amplification par PCR et migration sur gel de polyacrylamide 8%. L'analyse densitométrique a été effectuée par le programme MultiAnalyst version 1.1 (Bio-Rad, Hercules, California). L'étude statistique a été réalisée moyennant le Test Chi<sup>2</sup> et le test exact de Fisher.

Nos résultats ont montré que 28 parmi 46 femmes analysées étaient informatives dont 14 sont atteintes de MAIT. Le biais d'inactivation (supérieur à 80%) était présent chez une femme atteinte de MAIT et chez deux témoins. Ce résultat ne plaide pas en faveur d'une différence significative entre les malades et les témoins ( $p > 0,05$ ). De même, l'analyse des sous groupes de patientes atteintes de maladie de Basedow et d'hypothyroïdie auto-immune n'a pas révélé une différence significative ( $p > 0,05$ ).

En conclusion, nos résultats suggèrent que le biais de l'inactivation du chromosome X ne pourrait pas expliquer la prédominance féminine chez les femmes atteintes de MAIT au sein de cette grande famille multiplexe.

**Mots-clefs :** Maladies auto-immunes thyroïdiennes, inactivation du chromosome X, susceptibilité génétique

## Génétique des populations et maladies complexes

C085/#40

### Etude du polymorphisme IL-1B chez des individus algériens avec ou sans parodontite

Nadjia Saidi-Ouahrani (1), Boubaker Boukerzaza (2), Kawther Nourelhouda Boukortt (3), Leila Taleb (4), Hadjira Djelouli Ouhaïbi (3)

1: Département de biotechnologie, Faculté SNV, Université d'Oran, Algérie.

2: Département de chirurgie dentaire, Faculté de médecine, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.

3: Département de génétique moléculaire appliquée, Faculté SNV, Université Mohamed Boudiaf, Oran, Algérie.

4: Département de chirurgie dentaire, Faculté de médecine, Université de Tlemcen, Algérie.

**Auteur correspondant :** Saidi-Ouahrani Nadjia (saidinadjia@yahoo.fr)

la parodontite est un caractère pathologique multifactoriel. Les deux étiologies majeurs sont les pathogènes et le patrimoine génétique de l'hôte. La recherche du génotype de susceptibilité à la maladie fait l'objet de plusieurs travaux sur différents gènes en relation avec le système immunitaire. Parmi ces gènes ceux de la cytokine IL-1 qui joue un rôle important dans la pathogénèse des parodontites. Notre approche est l'étude «cas-témoins» du polymorphisme du gène IL1B+3954 (Snp : C+3954T (rs1143634T) chez des individus avec ou sans parodontite. Nous avons réalisé la PCR temps réel en utilisant la technologie TaqMan. Notre échantillon est composé de 98 individus, dont 69 ADN appartenant aux patients avec une parodontite (cas) et 29 sans parodontite (témoins). L'analyse statistique du génotype montre une association probable entre ce polymorphisme et la parodontite dans notre échantillon d'étude (avec p-value= 0.03,  $\chi^2=6.69$  ddl1, OR=0.09 avec IC95% : 0.02<OR<0.29).

**Mots-clefs :** Parodontite, polymorphisme- IL-1B, PCR Temps réel

## Génétique des populations et maladies complexes

C086/#64

### Les variants hypomorphes de SLC7A3, codant pour un transporteur d'acide aminé cationique sur le chromosome X, sont associés aux troubles du spectre autistique.

Agnès Rastetter (1), Caroline Nava (2), Johanna Rupp (3), Jean-Paul Boissel (3), Cyril Mignot (4), Claire Amiet (5), Aurélia Jacqueline (4), Céline Dupuits (6), Delphine Bouteiller (7), Boris Keren (8), Merle Ruberg (6), Anne Faudet (4), Claudine Laurent (6), Didier Périsset (9), Anne Philippe (9), Nicolas Lebrun (10), Jamel Chelly (10), David Cohen (9), Delphine Héron (4), Alexis Brice (6), Ellen Closs (4), Christel Depienne (6)

1. INSERM, U975 - CRICM, Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France, PARIS, France

2. AP-HP, Département de Génétique et de Cytogénétique, Unité fonctionnelle de génétique clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

3. Department of Pharmacology, University Medical Center of the Johannes Gutenberg University, Mainz, Allemagne

4. AP-HP, Département de Génétique et de Cytogénétique, Unité fonctionnelle de génétique clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

5. 10 AP-HP, Service de psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

6. INSERM, U975 - CRICM, Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

7. ICM, Plateforme PFGS, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

8. AP-HP, Département de Génétique et de Cytogénétique, Unité fonctionnelle de cytogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

9. AP-HP, Service de psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

10. Institut Cochin, Inserm U567, UMR 8104, Université René Descartes, Paris 5, France

**Auteur correspondant :** Rastetter Agnès (agnes.rastetter@icm-institute.org)

Les troubles du spectre autistique (TSA) sont des troubles neurodéveloppementaux caractérisés par une grande hétérogénéité clinique et génétique. Une cause génétique est actuellement identifiée chez près de 30% des patients.

Nous avons utilisé le séquençage de nouvelle génération afin d'identifier la cause des TSA chez deux frères autistes consanguins, pour lesquels une transmission liée à l'X ou autosomique récessive était possible. L'analyse des variants rares, modifiant la séquence codante, présents dans les régions homozygotes communes aux deux frères atteints ou sur le chromosome X a conduit à l'identification de six variants candidats. Seul l'un de ces variants n'a pas été identifié chez des témoins appariés : c.991G>A/p.Ala331Thr dans le gène SLC7A3, sur le chromosome X, codant pour la protéine membranaire CAT-3, un transporteur d'acide aminé cationique (L-arginine, L-ornithine, L-histidine et L-lysine).

Le crible de SLC7A3 chez 148 patients masculins atteints de TSA a permis l'identification de trois variants faux-sens rares (p.Tyr430Cys, p.Ser589Thr, p.Ser595Thr) chez trois patients additionnels.

Les études fonctionnelles ont montré que les mutations p.Tyr430Cys et p.Ser589Thr causent une perte de fonction sévère ou modérée de CAT-3, liée à une rétention de la protéine dans le réticulum endoplasmique. Par ailleurs, le dosage des acides aminés dans le LCR du cas index ayant la mutation p.Ala331Thr a montré une diminution de l'ornithine. La fréquence des variants de SLC7A3 est significativement plus élevée chez les garçons autistes de notre cohorte que dans la population ESP, suggérant que ceux-ci constituent des facteurs de susceptibilités aux TSA.

La présence d'une duplication 16p.11.2 de novo chez le patient ayant la mutation p.Tyr430Cys suggère également que les variants de SLC7A3 contribuent aux TSA en association à d'autres facteurs génétiques, dans l'hypothèse d'un modèle oligogénique.

En conclusion, cette étude a permis de montrer que des variants hypomorphes de SLC7A3/CAT-3 altèrent le transport des acides aminés cationiques contribuent probablement à l'étiologie des TSA dans le cadre d'un modèle oligogénique chez près de 2% des patients autistes de sexe masculin.

**Mots-clefs :** troubles du spectre autistique (TSA), transporteur d'acide aminé cationique, oligogenisme

## Génétique des populations et maladies complexes

C087/#72

### Implication des loci BAG3 et HSPB7 dans différentes étiologies d'insuffisance cardiaque systolique: résultats d'une coopération européenne incluant plus de 2000 patients.

Sophie Garnier (1), Eric Villard (2), Nicolas Lamblin (3), Pascal De Groot (3), Eloisa Arbustini (4), Stuart Cook (5), Christian Hengstenberg (6), Marie-Claire Aumont (7), Jean-François Aupetit (8), Olivier Dubourg (9), Laurent Fauchier (10), Pierre Gibelin (11), Jean-Noël Trochu (12), Richard Isnard (13), Michel Komajda (14), François Cambien (15), Philippe Charron (16)

1. UMRS\_937, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
2. UMRS\_956, INSERM, Paris, France
3. Hôpital cardiologique, Hôpital régional universitaire de Lille, Lille, France
4. Centre pour les maladies cardiovasculaires génétiques, Polyclinique San Matteo, Pavie, Italie
5. Heart Science Centre, Imperial College London, Londres, Royaume-Uni
6. Département des maladies cardiovasculaires, German Heart Center, Munich, Allemagne
7. Service de Cardiologie, Hôpital Bichat, Paris, France
8. Département de pathologie cardiovasculaire, Hôpital Saint-Joseph-Saint-Luc, Lyon, France
9. AP-HP, Hôpital Ambroise Paré, Université de Versailles-Saint Quentin, Boulogne, France
10. Service de Cardiologie, CHU Trousseau, Tours, France
11. Service de Cardiologie, CHU de Nice, Nice, France
12. INSERM UMR\_915, Institut du thorax, Service de Cardiologie, CHU de Nantes, Nantes, France
13. Institut de cardiologie, AP-HP, GH Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
14. Cardiologie médicale, AP-HP, GH Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
15. UMRS\_937, INSERM, Paris, France
16. Cardiologie médicale, AP-HP, GH Pitié-Salpêtrière, université Pierre et Marie Curie, Paris, France

**Auteur correspondant :** Garnier Sophie (sophie.garnier@upmc.fr)

Rationnel. L'insuffisance cardiaque systolique (IC systolique) est une maladie multifactorielle dont les déterminants génétiques sont peu connus à ce jour. Dans une récente étude d'association sur le génome (GWAS) nous avons cependant identifié deux régions chromosomiques ou loci, BAG3 et HSPB7, significativement associés avec la cardiomyopathie dilatée (CMD), étiologie majeure de l'IC systolique. Nous avons donc étudié plus avant ces deux loci en posant l'hypothèse (1) que ces loci pourraient aussi être impliqués dans le développement de l'insuffisance cardiaque d'origine ischémique (maladie coronaire) et (2) que ces loci pourraient être impliqués dans la sévérité de l'IC systolique et pas uniquement dans la susceptibilité à développer une insuffisance cardiaque.

Méthodes. Nous avons génotypé les polymorphismes (SNPs) des deux loci précédemment associés à la CMD (rs2234962 pour le locus BAG3, rs10927875 et rs945417 pour le locus HSPB7 locus) dans une population Européenne constituée de 1152 patients atteints d'IC ischémique ainsi que 1554 patients appariés sur l'âge, le sexe et l'ethnie. La sévérité de l'IC systolique, évaluée par la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG), le diamètre télédiastolique du ventricule gauche (DTDVG), l'âge au diagnostic ainsi que le score NYHA de dyspnée à l'inclusion, a également été comparée avec le génotype des patients atteints d'IC ischémique ainsi que celui de 1122 patients atteints de CMD.

Résultats. Nous avons pu détecter une association significative entre les SNPs testés au locus HSPB7 locus et l'IC ischémique (les fréquences des allèles mineurs de rs10927875 et rs945417 étaient moins importantes chez les patients que dans le groupe contrôle, avec

des p-value ajustées de 0.0028 et 0.0008 respectivement) alors que le SNP du locus BAG3 locus ne l'était pas. Dans les deux cohortes de patients atteints d'IC ischémique ou de CMD, aucun des deux loci n'étaient associés à la sévérité de l'IC à l'exception du DTDVG qui est significativement associé au rs2234962 (locus BAG3) chez les patients CMD (591 patients) et les patients atteints d'IC ischémique (348 patients) (p=0.0086 and 0.0012 respectivement).

Conclusions. Parmi les deux loci précédemment associés à la CMD, le locus HSPB7 est également associé avec l'IC ischémique alors que le locus BAG3 ne l'est pas. Cela suggère une implication différente des deux loci selon les causes sous-jacentes de l'IC systolique. Aucun des deux loci n'a pu être associé à la sévérité de l'IC si ce n'est une légère association du locus BAG3 avec le DTDVG.

**Mots-clefs :** Insuffisance cardiaque ischémique, Etudes d'associations génétiques, Cardiomyopathies dilatées

## Génétique des populations et maladies complexes

C088/#74

### Etude de patients atteints de syndrome métabolique et présentant des anomalies de l'enveloppe nucléaire

Pauline ARNAUD (1,2), Nathalie BONELLO-PALOT (1,2), Françoise MERONO (2), Sébastien COURRIER (2), Nicolas LEVY (1,2), Pierre MORANGE (3), Anne DUTOUR (3), Patrice ROLL (2,4), Catherine BADENS (1,2)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Timone, Marseille, France
2. Equipe "Enveloppe nucléaire et pathologies", INSERM UMR\_S910, Marseille, France
3. Nutrition, Obésité et Risque Thrombotique, INSERM UMR\_S1260, Marseille, France
4. Laboratoire de Biologie Cellulaire, Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** ARNAUD Pauline (paulinearnaud@outlook.com)

Le syndrome métabolique est une affection fréquente dans laquelle on retrouve des signes cliniques communs avec certaines pathologies de l'enveloppe et de la matrice nucléaires, notamment l'insulino-résistance et la lipodystrophie. Notre hypothèse de travail est qu'il existe un sous-groupe de patients, présentant un phénotype plus sévère, dont la pathologie évolue selon un mécanisme physiopathologique proche de celui des laminopathies.

Au sein d'une cohorte de 87 patients atteints de ce syndrome, notre équipe a caractérisé au cours d'une étude précédente, un sous-groupe de dix patients présentant un pourcentage élevé d'anomalies de l'enveloppe nucléaire. Parmi ces patients, quatre présentent des variations de séquence dans des gènes codant pour des protéines de l'enveloppe nucléaire (LMNA, ZMPSTE24 et TTN). Ces variants n'avaient jamais été décrits et étaient prédits *in silico* comme étant pathogènes.

Notre travail a consisté à apporter des éléments supplémentaires quant à la pathogénicité des variants identifiés dans le gène LMNA. Nous avons réalisé une analyse de transcrits chez les patients portant les mutations, qui ne montre pas d'effet sur l'épissage mais confirme la présence des mutations après la transcription. Des expériences de transfection transitoire de cellules normales ont permis de montrer une augmentation significative du pourcentage de noyaux anormaux dans les cellules exprimant les cDNA de prélamine A portant les mutations à tester par rapport aux cellules exprimant la prélamine A normale. Ceci est valable sur deux types cellulaires différents : fibroblastes et cellules endothéliales. L'utilisation d'oligonucléotides antisens ciblant le site d'épissage spécifique du transcrit lamine A permet de réduire fortement l'expression de la lamine A tout en conservant l'expression de la lamine C. L'action de ces oligonucléotides sur les cellules de patients mutés dans le gène LMNA entraîne une diminution des anomalies nucléaires. Ceci nous permet de conclure d'une part que la présence de lamine A mutée est responsable des anomalies nucléaires et que, d'autre part, la lamine C mutée ne contribue pas ou peu au phénotype cellulaire.

Nous avons pu confirmer l'effet pathogène des deux mutations identifiées dans le gène de la lamine A chez deux patients atteints de syndrome métabolique. L'effet fonctionnel de la mutation localisée dans ZMPSTE24 a été démontré précédemment à la fois par notre équipe et par d'autres auteurs. Par conséquent, le syndrome métabolique peut dans certains cas résulter d'anomalies de l'enveloppe nucléaire.

Etant donné le nombre important de protéines partenaires de la lamine A à tester dans ce contexte, nous avons programmé la réalisation du séquençage de l'exome entier par des techniques de haut débit pour les six autres patients avec anomalies nucléaires sans mutation identifiée. Ces techniques nous permettront d'analyser en un temps court, de nombreux gènes et d'identifier de nouveaux candidats potentiels.

**Mots-clefs :** Syndrome métabolique, Laminopathies, Anomalies de l'enveloppe nucléaire

## Génétique des populations et maladies complexes

C089/#101

### Haute prévalence de la mutation Ile244Thr du gène AGXT chez les patients marocains atteints d'hyperoxalurie primitive de type 1

Mariam TAJIR (1), Najat OULAHIANE (2), Jaber LYAHYAI (1), Lamiae BOUALLA (1), Hassan AITOUAMAR (2), Abdelaziz SEFIANI (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
2. Service Pédiatrie IV, Hôpital d'Enfant, CHU Ibn Sina, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** TAJIR Mariam (mariam\_tajir@yahoo.fr)

**Introduction :** L'hyperoxalurie primitive de type 1 (HP1) est une affection génétique autosomique récessive causée par un déficit d'une enzyme peroxysomale hépatique, l'alanine-glyoxylate-aminotransférase (AGT) codée par le gène AGXT. Plusieurs mutations de ce gène ont été rapportées, y compris la mutation Ile244Thr qui serait associée à un effet fondateur en Afrique du Nord. Le but de cette étude est d'estimer la prévalence de cette mutation chez les patients marocains atteints de HP1.

**Matériel et Méthodes :** Une étude moléculaire à la recherche de la mutation Ile244Thr chez 17 patients marocains non apparentés atteints d'HP1 a été réalisée par séquençage direct de l'exon 7 du gène AGXT.

**Résultat :** La mutation Ile244Thr a été identifiée chez huit patients à l'état homozygote et chez trois patients à l'état hétérozygote avec une fréquence allélique de 55,88%.

**Conclusion :** Le diagnostic moléculaire de l'HP1 au Maroc peut être initié par la recherche de la mutation Ile244Thr comme une investigation de première ligne non invasive et à faible coût. Cette stratégie peut faciliter le diagnostic moléculaire du HP1 dans notre pays et fournir un outil précis pour le diagnostic prénatal dans les familles touchées, pour le conseil génétique et pour la détection des individus présymptomatique.

**Mots-clefs :** Hyperoxalurie primitive type 1, AGXT, Ile244Thr mutation, Maroc



## Génétique des populations et maladies complexes

C090/#108

### Polymorphisme C677T du gène de la MTHFR et artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI)

Sabah Hanachi (1), Karima Sifi (1), Noredine Abadi (1), Nassira Kerouaz (3), Salima Zekri (2), Nawel Zerdoud (2), Daoud Roula (3), Cherifa Benlatreche (1)

1. Laboratoire de biologie et génétique moléculaire, faculté de médecine université de Constantine 3, laboratoire de biochimie CHU Benbadis Constantine Algérie.

2. Laboratoire de biochimie, CHU BenBadis de Constantine Algérie

3. Service de médecine interne, CHU BenBadis de Constantine Algérie.

**Auteur correspondant :** Hanachi Sabah (hanachisabah@yahoo.fr)

#### Introduction

La MTHFR (Méthylène TétraHydro Folate Réductase) est une enzyme intervenant dans le métabolisme de l'homocystéine. Elle catalyse la réduction irréversible de 5,10-méthylène tétrahydrofolate en 5-méthyltétrahydrofolate. Le polymorphisme C677T sur le gène codant pour la MTHFR crée une enzyme thermolabile qui possède une activité réduite, ce qui aboutit à une hyperhomocystéinémie.

L'hyperhomocystéinémie est considérée comme un facteur de risque indépendant pour les maladies cardio-vasculaires. Elle est également associée à des thromboses artérielles et à des malformations du tube neural (spina bifida, anencéphalie). Le but de cette étude est d'analyser la prévalence du polymorphisme C677T du gène MTHFR chez un groupe de patients atteint d'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) par rapport aux témoins et à examiner l'association possible entre l'AOMI et la mutation du gène MTHFR.

#### Patients et Méthodes :

59 patients atteints d'AOMI ont été inclus dans l'étude. Ils étaient 44 hommes et 15 femmes avec un âge moyen de 57,96 ans. Quarante-huit patients (81,35%) étaient diabétiques (type 2) et vingt-deux (37,3%) étaient hypertendus. L'ADN a été extrait des leucocytes à partir de sang total prélevé sur EDTA et les génotypes ont été déterminés par PCR-RFLP, utilisant l'enzyme de restriction Hinf I. Quatre-vingt-cinq sujets sains (36 hommes et 49 femmes avec un âge moyen de 46 ans) ont servi de témoins.

#### Résultats:

Les fréquences génotypiques du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR dans notre population d'étude étaient les suivantes : 31 patients atteints d'AOMI (52,54%) et 44 sujets sains (51,76%) étaient sauvages C/C, 9 patients (15,25%) et quinze témoins (17,65%) étaient homozygotes T/T, et dix-neuf patients (32,20%) et vingt-six témoins (30,59%) étaient hétérozygotes C/T.

En plus, les patients atteints d'AOMI ont été comparés à ceux sans AOMI et le diabète a été significativement associé à l'AOMI.

#### Conclusion

Les fréquences génotypes étaient similaires dans les deux groupes. Aucune association significative n'a été détectée entre le génotype T/T et la population d'artériopathes que nous avons étudiée.

**Mots-clefs :** Méthylène TétraHydroFolate Réductase (MTHFR); Mutation C677T, AOMI (artériopathie oblitérante des membres inférieurs), PCR/RFLP

## Génétique des populations et maladies complexes

C091/#112

### Polymorphism in metabolic enzymes genes (CYP2D6 and NAT2) and head and neck cancer in Tunisian patients

Amine Chakroun (1), Amel Hamza-Chaffai (2), Rim khlifi (3), Ahmed Rebai (4)

1. ORL hospital CHU Sfax Hbib Bourguibal, CHU Sfax Hbib Bourguibal, Sfax, Tunisie

2. Unite of Marine and Environment Toxicology, IPEIS, Sfax, Tunisie

3. Bioinformatic unite, Centre of biotechnology of Sfax, Sfax, Tunisie

4. Unite of bioinformatic, Centre of biotechnology of Sfax, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Khlifi Rim (rimkhlifi@yahoo.fr)

Head and neck cancer (HNC) belong to the most common types of cancer worldwide. HNC represents a significant public health issue in Tunisia.

The purpose of this study was to investigate the relationship between HNC and environmental agents and polymorphisms in metabolic enzymes genes. We study the prevalence of CYP2D6 and NAT2 polymorphisms in 169 Tunisian patients with HNC and 261 control subjects by PCR-RFLP. Lifetime tobacco smoking and chewing, drinking status, and occupational exposure were used with risk of HNC and to evaluate their potential relation to these polymorphisms. Relative risk was estimated by using multivariable logistic regression method. We detected an association between HNC and rs1058172 (CYP2D6) variant carriers ( $P = 0.016$ ). No association was found between the polymorphisms genotypes of NAT2 Arg268Lys and risk of HNC. A significant gene-gene interactions for CYP2D6-NAT2 ( $OR = 1.16$ ,  $P = 0.006$ ) was also observed.

To Conclude, Genetic polymorphism in CYP1A1 may significantly associate with HNC in the Tunisian population. The results of this study suggest a possible gene-environment interaction for certain carcinogen metabolizing enzymes, but larger studies that fully evaluate the interaction are needed.

**Mots-clefs :** Head and neck cancer, CYP450 2D6, NAT2, Polymorphisms

## Génétique des populations et maladies complexes

C092/#121

### Recherche de marqueurs génétiques impliqués dans les ischémies cérébrales du sujet jeune

Sylvia REDON (1), Serge TIMSIT (2), Claude FEREC (3)

1. Laboratoire de Génétique moléculaire et épidémiologie, CHRU Morvan, Brest, France
2. Service de Neurologie, CHRU, Brest Cedex, France
3. INSERM U1078, CHRU Morvan, BREST, France

**Auteur correspondant :** REDON Sylvia (sylvia.quemener@chu-brest.fr)

Les Accidents Vasculaires Cérébraux (AVCs) sont des déficits neurologiques soudains d'origine vasculaire. Il en existe 2 types : hémorragiques (20% des cas) et ischémiques (80% des cas). L'âge moyen de survenue est 70 ans mais 10 à 15% des patients ont moins de 45 ans.

Les étiologies sont multiples (artérielles, cardiaques, génétiques...), les facteurs de risque sont nombreux et près de la moitié des AVCs reste de cause inconnue chez les jeunes ce qui en fait une maladie complexe. Notre objectif est de rechercher des facteurs de susceptibilité aux AVCs ischémiques constitués (AICs) dans une population jeune par plusieurs approches : identifier des remaniements génomiques type « variations du nombre de copies » (CNVs), réaliser des approches gènes candidats et analyser des facteurs de risque (contexte médical, familial, exposition à des toxiques) en comparant 400 patients ayant fait un AIC entre 15 et 40 ans et 400 témoins âgés de 18 à 40 ans.

Les CNVs détectés par l'approche pangénomique sont soit polymorphiques (CNP, fréquence > 1% chez les témoins); soit « rares » car retrouvés ponctuellement chez un ou quelques cas. L'approche gènes candidats consiste en le génotypage de marqueurs SNP par des techniques de SNaPshot, et d'HRM (High Resolution Melting) ainsi que du séquençage.

Dans notre population, l'hypertension, les migraines, le tabac, la prise de stupéfiants sont des facteurs de risque importants, multipliant respectivement par 35, 3,8, 4 et 2,8 le risque d'AIC. Nos analyses statistiques sur 168 patients et 200 contrôles ont mis en évidence 98 CNPs ( $\approx 0.9\%$  du génome). Quatre de ces régions donnent des résultats significatifs sans ajustement par la correction de Bonferroni. De plus, 478 CNVs « rares » ont été observés dont 237 chez les cas. Certains CNVs touchent des gènes déjà impliqués dans les ischémies cérébrales ou associés à des facteurs de risque tels que ALOX5AP ou PRKCE. Enfin, deux CNVs sont récurrents chez 2 et 3 % des cas et totalement absent chez les témoins ( $p=0,02$  et  $0,04$  respectivement). L'approche gènes candidats a mis en évidence une association significative entre la C677T du gène MTHFR et les AICs jeunes ( $OR=2,39$ ,  $p=0,02$  pour le génotype TT).

Les premiers résultats suggèrent que 4 CNVs pourraient être des facteurs de risque ou protecteurs. Concernant les nombreux CNVs « rares », le faible nombre de parents ne permet pas de déterminer la nature héritée ou de novo de la majorité des anomalies et il serait long et coûteux de tester chacune des variations et leurs conséquences fonctionnelles. Nous avons donc choisi de sélectionner les CNVs les plus pertinents par les données bibliographique et d'appliquer une stratégie gène candidat. Ce travail a d'ores et déjà permis de confirmer l'implication de facteurs de risque environnementaux et génétiques déjà connus mais surtout d'émettre de nouvelles hypothèses génétiques dans la survenue des AICs du sujet jeune.

**Mots-clefs :** AVCs ischémiques, CNV, étude d'association

## Génétique des populations et maladies complexes

C093/#129

### « Deux nouvelles mutations dans le gène NDRG1 causent la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 4D (HMSN-Lom) chez des patients d'origine non gitane ».

Nathalie Bonello-Palot (1), Amandine Boyer (1), Jérôme Franques (2), Nathalie Martini (1), Nathalie Roeckel (3), Christel Castro (3), V. Laugel (4), Y. Alembik (5), Karine Ngyuen (6), Rafaëlle Bernard (1), Jean Pouget (2), Nicolas Lévy (1) et Valérie Delague (2)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone enfants, Marseille, France
2. Centre de Référence Maladies neuro-musculaires, Hôpital Timone Adlute, Marseille, France
3. Inserm, UMR\_910, Faculté de Médecine, Marseille, France
4. Service de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone enfants, Marseille, France
5. Centre de Référence maladies neuromusculaires, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
6. Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
6. Service de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone enfants, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Bonello-Palot Nathalie (nathalie.bonello@ap-hm.fr)

La neuropathie héréditaire sensitivomotrice de type Lom (HSMNL) également appelée CMT4D, est une forme sévère de maladie de Charcot-Marie-Tooth de type démyélinisante, de transmission autosomique récessive. Cette maladie est associée à des mutations dans le gène NDRG1 (N-Myc downstream regulated gene 1), localisé en 8q24. L'HSMNL a été initialement décrit (Kalaydjieva et al.1998) chez des personnes d'origine tzigane originaires de Bulgarie, pour qui la mutation non-sens p.Arg148\* a été identifiée à l'état homozygote (Kalaydjieva et al. 2000). Cette mutation fondatrice a ensuite été identifiée dans d'autres populations tziganes d'origine italienne, espagnole, slovène, hongroise et serbe. A ce jour, une seule autre mutation a été rapportée dans NDRG1 : Il s'agit de la mutation d'épissage c.538-1G>A (p.Ser181\_Lys198del19), qui entraîne la délétion de l'exon 9 au niveau du transcrite et le décalage du cadre de lecture. Les patients porteurs de cette mutation présentent un phénotype classique d'HSMNL.

Nous rapportons deux nouvelles mutations dans le gène NDRG1 chez des patients d'origine non tzigane. Nous avons réalisé l'analyse de ce gène par des techniques d'Hybridation Génomique Comparée (CGH) dans deux familles. Nous avons ensuite réalisé des techniques de RT-PCR et de Western Blot afin d'argumenter la pathogénicité de ces mutations. Dans la famille 1, les parents sont cousins germains d'origine algérienne, le cas index est leur première fille. Dans la famille 2, il s'agit de deux frères atteints issus d'une union consanguine d'origine franco-italienne. Dans les deux familles, les patients souffrent d'une forme sévère, de maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 1 de transmission autosomique récessive (CMT4).

Dans la famille 1, nous avons identifié une délétion génomique de grande taille dans le gène NDRG1 incluant les exons 9 à 13 (c.537+549\_856-1044del, p.Ile180\_Lys285del), entraînant la perte de ces exons dans le transcrite aberrant et une absence quasi-totale de la protéine. Dans la famille 2, nous avons mis en évidence une mutation d'épissage, c.390-2A>G (p.Gly130Glyfs\*1), à l'état homozygote entraînant la perte de l'exon 7 dans le transcrite aberrant et une perte protéique importante.

Cette étude a permis d'identifier deux nouvelles mutations dans un gène responsable de forme sévère de maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 1 de transmission autosomique récessive. Elle démontre également l'intérêt de rechercher des anomalies de grande taille dans les gènes responsables de CMT, en particulier par l'utilisation de puces de CGH. En ce qui concerne le phénotype, de nos patients présentent des signes cliniques très similaires à ceux précédemment décrits dans la littérature pour HMSN-Lom, à l'exception de la présence d'un syndrome cérébelleux dans la famille

2. Par ailleurs, les patients décrits dans notre étude n'ont pas d'origine tsigane connue : il est donc important de ne pas restreindre le criblage du gène NDRG1 à cette population.

**Mots-clefs** : Charcot-Marie-Tooth, NDRG1, stratégie d'exploration moléculaire

## Génétique des populations et maladies complexes

C094/#134

### Apport de nouvelles statistiques basées sur la consanguinité à la génétique des populations et à l'étude des maladies complexes

Marie-Claude Babron (1), Steven Gazal (1), Emmanuelle Génin (2), Anne-Louise Leutenegger (1), Mourad Sahbatou (3)  
1. UMR-946, Inserm, Paris, France  
2. UMR-1078, Inserm, Brest, France  
3. Fondation Jean Dausset, CÉPH, Paris, France

**Auteur correspondant** : Gazal Steven (steven.gazal@inserm.fr)

La consanguinité est un concept central de la génétique. En génétique des populations, le coefficient de consanguinité des individus est calculé afin de caractériser les préférences matrimoniales des populations et leur degré d'endogamie. Les familles consanguines ont joué un rôle important dans la localisation des gènes impliqués dans les maladies monogéniques récessives par la méthode de cartographie d'homozygotie (« homozygosity mapping ») qui consiste à rechercher des régions homozygotes par descendance (HBD) partagées par des malades consanguins.

Avec la disponibilité de puces de SNPs permettant de génotyper plusieurs centaines de milliers de marqueurs sur le génome, il est maintenant possible d'étudier la consanguinité d'individus pour lesquels on ne dispose d'aucune information généalogique. De nombreux logiciels sont apparus ces dernières années afin d'estimer le coefficient de consanguinité  $f$  d'un individu et/ou détecter ses segments HBD. Ces logiciels sont cependant souvent peu conviviaux et fournissent seulement une description de la consanguinité et pas les outils pour l'interpréter.

Pour pallier le problème, nous avons développé le logiciel FSuite qui permet d'estimer les  $f$ , de tester s'ils sont significativement différents de 0, et de déduire le type d'apparentement des parents de chaque individu à partir de données de puces de SNPs ou de données de séquençage d'exomes. FSuite permet également de rechercher des variants rares récessifs impliqués dans une maladie monogénique ou dans une sous-entité mendélienne de maladies complexes en identifiant, parmi les malades d'une étude d'association pangénomique, ceux qui sont consanguins et en recherchant alors les régions HBD qu'ils partagent.

**Mots-clefs** : Consanguinité, Homozygosity mapping, Chaînes de Markov cachées (HMM)

## Génétique des populations et maladies complexes

C095/#153

### Etude de cohorte Internationale TOSCA sur la Sclérose Tubéreuse de Bourneville (STB)

Renaud Touraine (1), Rima Nabbout (2), Vincent Cottin (3), Guillaume Beure d'Augères (4), John Christopher Kingswood (5), Martha Feucht (6), Elena Belousova (7), Marit Bjørnvold (8), Paolo Bruzzi (9), Paolo Curatolo (10), Maria Dahlin (11), Petrus de Vries (12), José Carlos Ferreira (13), Christoph Hertzberg (14), Anna Jansen (15), Sergiusz Jozwiak (16), John A Lawson (17), Alfons Macaya (18), Finbar O'Callaghan (19), Benedick Perkovic (20), Valentin Sander (21), Matthias Sauter (22), Sotirios Youroukos (23), Bernard Zonnenberg (24), Tom Carter (25), Carla Fladrowski (26), Ramon Castellana (27), Bulent Ulker (28), Stefania Crippa (29)

1. Génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU-Hôpital Nord, Saint Etienne, France
2. Centre de référence épilepsies rares, Hôpital Necker Enfants malades, Paris, France
3. Centre national de référence des maladies pulmonaires rares, Service de pneumologie, Hôpital Louis Pradel, Bron, France
4. Association ASTB, Angers, France
5. Sussex Renal Unit, Brighton and Sussex University Hospital Trust, Brighton, Royaume-Uni
6. Universitätsklinik für Kinder-und Jugendheilkunde, Wien, Autriche
7. Department of Psychoneurology and Epileptology, Moscow Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery, Moscou, Russie
8. Kompetansesenter for sjeldne epilepsirelaterte diagnoser, Oslo university hospital, Oslo, Norvège
9. Unit of Clinical Epidemiology, Department of Epidemiology And Prevention IRCCS, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Gênes, Italie
10. Pediatric Neurology Unit, Neuroscience Department, Tor Vergata University Hospital, Rome, Italie
11. Karolinska University Hospital, Stockholm, Suède
12. Division of Child & Adolescent, Psychiatry University of Cape Town, Cape town, Afrique du sud
13. Neuropediatras, Centro Hospitalar Lisboa Ocidental, Lisbonne, Portugal
14. Center for Neuropediatrics and Social Pediatrics, Vivantes-Klinikum Neukölln, Berlin, Allemagne
15. Clinic, Pediatric Neurology Unit, Department of Pediatrics, UZ Brussel Hospital, Bruxelles, Belgique
16. Pediatrics, Children's Memorial Health Institute of Warsaw, Varsovie, Pologne
17. Pediatric Neurologist, Sydney Children's Hospital, Sydney, Australie
18. Servicio de Neurología Pediátrica, Hospital Vall d'Hebron, Barcelone, Espagne
19. NHS Foundation Trust, University Hospitals Bristol, Bristol, Royaume-Uni
20. Pediatric Neurology, SPS Pediatrična klinika, Ljubljana, Slovénie
21. Neurology, Tallinn Children Hospital, Tallinn, Estonie
22. Nephrologisches Zentrum, Medizinische Klinik und Poliklinik IV, München, Allemagne
23. Neurology, "St. Sophia" Children's Hospital, Athènes, Grèce
24. Department of Internal Medicine, University Medical Center, Utrecht, Pays-bas
25. TSA Tuberous Sclerosis Association, Nottingham, Royaume-Uni
26. ONLUS, International Relations, Associazione Sclerosi Tuberosa, Milan, Italie
27. Novartis Farma S.p.A., Novartis Oncology Region Europe, Origgio, Italie
28. EGM Rare Tumors, Novartis Pharma AG, Basel, Suisse
29. Novartis Oncology Region Europe, Novartis Farma S.p.A., Origgio, Italie

**Auteur correspondant** : Touraine Renaud (renaud.touraine@chu-st-etienne.fr)

TOSCA est une étude de cohorte prospective non interventionnelle, multicentrique, internationale, initialement Européenne. Elle a pour but d'évaluer les manifestations de la STB, leurs évolutions et prises en charge. Elle est pilotée par un bureau scientifique auquel participent également des représentants des Associations de patients et du promoteur industriel.

Tout patient diagnostiqué avec une STB peut être inclus dans cette étude s'il a été vu en consultation pour sa maladie dans les 12 mois précédant l'inclusion. Environ 2000 patients seront inclus dans 250 centres répartis dans plus de 30 pays. Tous les patients (ou leur représentants légaux) doivent fournir leur consentement éclairé avant leur inclusion.

Les objectifs de cette étude sont de décrire l'apparition, l'évolution et le pronostic des manifestations de la STB, d'identifier les manifestations

rares et les comorbidités, de recueillir les traitements et leur efficacité pour contribuer à décrire l'histoire naturelle de la STB (évaluation des symptômes et qualité de vie) et promouvoir la recherche sur cette maladie.

Ce recueil est structuré en une section principale qui inclue des informations générales obligatoires sur le profil du patient (démographie, famille, diagnostic prénatal, signes vitaux, caractéristiques de la maladie), collectées à l'inclusion puis tous les ans, et des sections optionnelles dont l'objectif est d'approfondir une ou des questions particulières portant sur un domaine de l'affection, bâties comme une étude clinique, et ne concernant éventuellement qu'une partie des patients. La section principale ne nécessite pas d'évaluations cliniques ou biologiques additionnelles autres que celles requises pour suivi et la prise en charge habituelle des patients. Les sections optionnelles intègrent la collecte de données additionnelles et peuvent nécessiter des investigations complémentaires, comme des échelles de mesure de la qualité de vie. Ces sections optionnelles seront ajoutées au fil du temps dans la base de données, selon l'arbitrage du bureau scientifique. La période de recrutement est de 24 mois avec un suivi de 5 ans.

Une sous-étude TOSCA PASS sera proposée aux patients bénéficiant d'un traitement par Votubia® en Europe. Elle permettra de fournir des données à l'Agence Européenne du Médicament afin d'évaluer la tolérance et la sécurité au long cours du traitement par Votubia® dans ses indications autorisées.

En conclusion, les informations collectées dans cette cohorte de patients STB, la plus large au monde, permettront d'une part, de mieux connaître cette affection, et d'autre part, d'en mettre en relief les méconnaissances, ceci afin d'orienter les recherches scientifiques, cliniques et thérapeutiques futures.

**Mots-clefs :** Sclérose Tubéreuse de Bourneville, Etude observationnelle, Epidémiologie

## Génétique des populations et maladies complexes

C096/#160

### Syndrome de Turner : analyse de l'évolution de l'âge au diagnostic et description phénotypique et génotypique de 174 patientes

Julie AUGER (1), Abderrahim OUSSALAH (2), Laetitia LAMBERT (3), Jacqueline VIGNERON (3), Philippe JONVEAUX (4), Bruno LEHEUP (1)

1. Médecine Infantile et Génétique Clinique, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy et U954, Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France

2. Inserm U954, Nutrition Génétique et Exposition aux Risques Environnementaux (NGERE), Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France

3. Unité de Génétique, Maternité Régionale de Nancy CHU de Nancy, Nancy, France

4. Laboratoire de Génétique Médicale, EA 4368, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France

**Auteur correspondant :** AUGER Julie (julie.auger@hotmail.fr)

Le syndrome de Turner est caractérisé par la présence d'un chromosome X et l'absence partielle ou complète du deuxième gonosome. Il est responsable d'un tableau clinique de sévérité variable pouvant associer un retard de croissance intra-utérin et/ou post-natal, des signes dysmorphiques, un lymphoedème néonatal, une dysgénésie gonadique, et des atteintes ORL, viscérales ou métaboliques.

L'objectif principal de ce travail est de décrire l'évolution de l'âge au diagnostic de ce syndrome au cours du temps chez les jeunes filles suivies à Nancy. Nous avons également réalisé une description phénotypique et génotypique de ces patientes et recherché une éventuelle évolution de cette description au cours du temps.

Il s'agit d'une étude épidémiologique observationnelle descriptive d'une série de cas, monocentrique. L'ensemble des sujets féminins pris en charge depuis 1969 au centre de référence de Nancy pour un syndrome de Turner prouvé en cytogénétique et pour lesquels nous disposons de la date de diagnostic et de la formule caryotypique ont été inclus. L'effectif total est de 174 patientes.

L'âge médian au diagnostic dans notre série est de 100 mois (0-150 mois). 10,3 % des patientes ont été diagnostiquées en période anténatale. 24,1 % ont été diagnostiquées avant 6 mois, 29,9 % entre 1 an et 11 ans et 35,6% au-delà de 11 ans. Il existe une corrélation inverse statistiquement significative entre l'âge au diagnostic et le temps depuis 1985 ( $p=0.0290$ ). La médiane d'âge au diagnostic a diminué jusqu'en 2000 puis a réaugmenté (2,5 ans entre 2000 et 2004 versus 8,3 ans entre 2005 et 2012). 48,9 % (85/174) des patientes ont une formule 45,X homogène mais la proportion des monosomies X diminue de manière significative au cours du temps ( $p=0.016$ ). 45 % des patientes avaient un retard de croissance intra-utérin, 75 % ont bénéficié d'un traitement par hormone de croissance. 25,5 % des sujets renseignés ont eu une puberté spontanée, 30,1 % ont une cardiopathie et 23,4 % une uropathie.

Dans cette première étude française de l'évolution de l'âge au diagnostic du syndrome de Turner, nous avons mis en évidence une diminution significative de celui-ci au cours du temps. La tendance à l'augmentation de l'âge médian au diagnostic depuis 2000 peut être liée à l'augmentation récente des diagnostics prénataux et des interruptions consenties de grossesse qui en résultent. La proportion postnatale des formules 45,X, responsables de la plupart des signes d'appel échographiques, a tendance à diminuer. Les différents résultats descriptifs de notre population correspondent aux données de la littérature, de même que l'évolution de la proportion des différentes formules de caryotype.

Dans cette série nous démontrons une évolution historique de l'âge au diagnostic avec évolution récente vers une réaugmentation de celui-ci qui peut être liée à un effet du diagnostic anténatal. Une plus grande attention au diagnostic précoce de formes peu expressives est donc nécessaire.

**Mots-clefs :** Syndrome de Turner, Age au diagnostic, Evolution génotypique



## Génétique des populations et maladies complexes

C097/#165

### A rare motor neuron deleterious missense mutation in the DPYSL3 (CRMP4) gene is associated with ALS

Hélène Blasco (1), Nathalie Bernard-Marissal (2), Patrick Vourc'h (3), Yves-Olivier Guettard (3), Claire Sunyac (4), Olivier Augereau (5), Joelle Khederchah (6), Kevin Mouzat (7), Paul H Gordon (8), Catherine Antar (3), Charlotte Veyart-Durebex (3), Gérard Besson (9), PM Andersen (10), François Salachas (8), Vincent Meininger (8), William Camu (11), Brigitte Pettman (2), Christian R Andres (12), Philippe Corcia (13)

1. INSERM U930, Université François Rabelais, Tours, France
2. INMED, UMR S901, Université de la Méditerranée, Marseille, France
3. U930, Université François Rabelais, Tours, France
4. INMED, UMR S901, Université de la Méditerranée, Marseille, France
5. laboratoire de biochimie, CHRU de Tours, Tours, France
6. laboratoire de biochimie, CHRU de Tours, tours, France
7. Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes, Nîmes, France
8. Département des Maladies du Système Nerveux, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
9. centre SLA, CHU Grenoble, Grenoble, France
10. Department of Clinical Neuroscience, Umeå University, Umeå, Suède
11. Centre SLA, Hôpital Gui-de-Chauliac, CHU de Montpellier, Montpellier, France
12. U930 et laboratoire de Biochimie, Université François Rabelais et CHRU de Tours, Tours, France
13. centre SLA et U930, CHRU de Tours et Université François Rabelais, Tours, France

**Auteur correspondant :** BLASCO Hélène (helene.blasco@univ-tours.fr)

#### Abstract

The dihydropyrimidinase-like 3 (DPYSL3) or Collapsin Response Mediator Protein 4a (CRMP4a) expression is modified in neurodegeneration and is involved in several ALS-associated pathways including axonal transport, glutamate excitotoxicity and oxidative stress. The objective of the study was to analyze CRMP4 as a risk factor for ALS.

We analyzed the CRMP4 gene in French ALS patients (n=468) and matched-controls (n=394) We subsequently examined a variant in a Swedish population (184 SALS, 186 controls), and evaluated its functional effects on axonal growth and survival in motor neuron cell culture.

The rs147541241:A>G missense mutation occurred in higher frequency among French ALS patients (Odds ratio = 2.99) but the association was not confirmed in the Swedish population. In vitro expression of mutated CRMP4 in motor neurons reduced axonal growth and accelerated cell death compared to wild type protein.

Thus, the association between the rs147541241 mutation and ALS was limited to the French population, highlighting the geographic particularities of genetic influences (risks, contributors). The identified variant appears to shorten motor neuron survival through a detrimental effect on axonal growth and CRMP4 could act as a key unifier in transduction pathways leading to neurodegeneration through effects on early axon development.

**Mots-clefs :** Amyotrophic lateral sclerosis, CRMP, risk factor

## Génétique des populations et maladies complexes

C098/#192

### Etude des variants du gène TGF-β1 et le risque de survenue des fausses couches récurrentes idiopathiques

Kalthoum Magdoud (1), Granados Viviana (2), Touhami Mahjoub (1), Wassim Youssef Almawi (3), Renaud Touraine (2)

1. Laboratoire "Génome Humain et Maladies Multifactorielles", Faculté de Pharmacie de Monastir, Tunisie
2. Service de Génétique, CHU-Hôpital Nord, Saint-Etienne, France.
3. Département de Biochimie Médicale, Université du golfe Manama, Bahreïn.

**Auteur correspondant :** kalthoum magdoud (kalthoum55@yahoo.fr)

#### Introduction

La physiopathologie des fausses couches spontanées à répétition sont multiples. Le déséquilibre entre le système pro inflammatoire et anti inflammatoire est de plus en plus étudié. La réduction du taux plasmatique maternel du TGF-β1 pourrait être une cause d'avortement à répétition. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de quatre polymorphismes qui touchent le gène de TGF-β1 -509 C/T, -800 G/A, +869T/C, +915G/C et leurs effets dans la survenue des fausses couches spontanées idiopathiques à répétition

#### Patientes et Méthodes

C'est une étude cas témoin : 304 femmes Tunisiennes ayant au moins trois avortements sans cause connue, comparées à 371 femmes de même âge sans antécédents d'avortements. Le DNA est extrait des leucocytes par la méthode salting out. L'étude des 4 polymorphismes du gène TGF-β1 a été étudié par une technique de discrimination allélique utilisant des sondes TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, California, USA). L'analyse de l'équilibre Hardy-Weinberg a été faite par le programme HPlus 2.5 software (<http://qge.fhcr.org/hplus>) et l'étude d'association a été faite par SPSS v. 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). L'étude de déséquilibre de liaison ont été calculé avec Haploview 4.2 (<http://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>)

#### Résultats

Seul le polymorphisme +915G/C du gène TGF-β1 est associé aux avortements à répétition selon le modèle additif, dominant et récessif. En plus, on a identifié les trois haplotypes GTTG, CCTG et CTCG comme positivement associés et l'haplotype GCCG comme négativement associé avec la survenue des fausses couches récurrentes.

#### Conclusion

Le polymorphisme +915G/C (rs1800471) du gène TGF-β1 constitue un facteur de risque de survenue des avortements à répétition.

**Mots-clefs :** TGFB1, Polymorphismes / Haplotypes, fausses couches spontanées récurrentes

## Génétique des populations et maladies complexes

C099/#204

### Arthrose précoce et mutations dans le gène COL2A1 : description de 4 familles additionnelles.

David Geneviève (1), Sébastien Mouton (2), Sabine Sigaudy (3), Patricia Blanchet (4), Aurélie Fabre (5), Bruno Dumont (6), Frédéric Tran Mau Them (4), Elodie Sanchez (7), Didier Lacombe (2), Christian Jorgensen (8), Isabelle Toutou (9), Mouna Barat-Houari (10)

1. Département de Génétique médicale, Inserm U844, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Montpellier, France
2. Département de génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. Département de Génétique médicale, CHU La Timone, APHM, Marseille, France
4. Département de Génétique médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France
5. UMAI, Laboratoire de Génétique., CHRU Montpellier, Montpellier, France
6. UMAI, Laboratoire de Génétique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
7. Département de Génétique Médicale, INSERMU844, CHRU Montpellier, UM1, Montpellier, France
8. Rhumatologie, médecine physique et de réadaptation, INSERMU844, CHRU Montpellier, UM1, Montpellier, France
9. UMAI, laboratoire de génétique, INSERMU844, UM1, CHRU Montpellier, Montpellier, France
10. UMAI, Laboratoire de Génétique, INSERMU844., UM1, CHRU Montpellier, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** Geneviève David (d-genevieve@chu-montpellier.fr)

L'arthrose est considérée comme une maladie multifactorielle, c'est-à-dire résultant de la combinaison de facteurs génétique, de facteurs environnementaux et d'usure mécanique liée à l'âge.

Les études de jumeaux ont identifié que les facteurs génétique ont souvent un poids très important dans la composante multifactorielle mais ce poids varie selon les études et la localisation de l'arthrose.

Les dernières modélisations affinent l'impact des différents facteurs responsables de l'arthrose en fonction de l'âge de l'apparition de la maladie. Ainsi, en cas d'arthrose précoce (avant 30 ans), la part des facteurs génétique est prépondérante, alors que lorsque l'arthrose apparaît à un âge avancé, les facteurs mécaniques liés à l'âge sont prépondérants. A ce jour, 4 gènes (COL2A1, TRPV4, COMP et SMAD3) sont responsables d'arthrose dans une forme mendélienne autosomique dominante. Cependant les familles liées à des mutations dans ces gènes sont rares.

Nous rapportons ici, les données cliniques et radiologiques de 4 nouvelles familles avec arthrose précoce et mutations dans le gène COL2A1 sans autres manifestations radiologiques évocatrices de chondrodysplasie.

A ce jour, seules 3 familles et 1 cas index isolé avec arthrose précoce et mutation dans le gène COL2A1 mais sans autres manifestations radiologiques évocatrices de chondrodysplasie, sont décrites dans la littérature.

Nous avons reçu des demandes d'étude du gène COL2A1 pour 7 cas index avec arthrose précoce et identifié une mutation pour 4 d'entre eux soit plus de la moitié des cas. Tous les cas index font partie de familles avec une transmission autosomique dominante d'arthrose précoce. Les mutations identifiées sont, soit des mutations déjà décrites chez des patients avec un syndrome de Stickler, soit, une mutation avec délétion entraînant un décalage du cadre de lecture.

L'âge moyen d'apparition des douleurs est de 21 ans (âge minimum 7 an, maximum 47 ans). Le diagnostic d'arthrose est posé en moyenne à 24 ans (âge minimum 7 an, maximum 48 ans) avec un délai moyen de 2 ans, mais pouvant aller jusqu'à dix ans entre les premières douleurs et le diagnostic d'arthrose. L'arthrose atteint toutes les articulations subissant des contraintes mécaniques dont les grosses articulations, les vertèbres mais également les mains.

La chirurgie de remplacement articulaire est réalisée dans la 3ème ou la 4ème décennie. Les premières articulations remplacées sont la hanche puis les genoux et enfin les épaules.

**Mots-clefs :** Arthrose précoce, COL2A1, Formes familiales dominantes

## Génétique des populations et maladies complexes

C100/#224

### « Identification de délétions et de duplications partielles de la région 17p11.2 : à propos de 4 cas familiaux. »

Nathalie Bonello-Palot (1), Nathalie Martini (1), Nathalie Roeckel (2), Karine Nguyen (3), Rafaëlle Bernard (1), Jean Pouget (4), Nicolas Lévy (1), Valérie Delague (2)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone enfants, Marseille, France
2. Inserm, UMR\_910, Faculté de Médecine, Marseille, France
3. Service de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone enfants, Marseille, France
4. Centre de Référence Maladies neuro-musculaires, Hôpital Timone Audite, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Bonello-Palot Nathalie (nathalie.bonello@ap-hm.fr)

La maladie de Charcot-Marie-Tooth dans sa forme la plus fréquente (CMT1A) est associée à la duplication de la région 17p11.2.-12, duplication d'environ 1.5Mb, incluant le gène PMP22 (peripheral myelin protein 22). L'anomalie moléculaire en miroir est la délétion de cette région 17p11.2, et est associée à une autre neuropathie héréditaire, la Neuropathie Héréditaire par Hypersensibilité à la Pression (HNPP). Les mécanismes physiopathologiques de ces maladies sont bien connus. La diminution du nombre de copies du gène PMP22 entraîne le phénotype d'HNPP alors que l'augmentation du nombre de copies, et l'augmentation du taux d'expression du transcrite PMP22 qui en résulte, entraînent le phénotype CMT 1A.

Si la délétion/duplication de la région de 1.5 Mb est responsable de la grande majorité des cas de HNPP/CMT1A, de rares cas de délétions ou duplications partielles ont été décrits. Nous rapportons l'intérêt de l'utilisation de puces d'Hybridation Génomique Comparée (CGH) dédiées dans la détection de ces remaniements atypiques dans 4 familles présentant des individus atteints de CMT1A ou HNPP.

Nous décrivons deux familles présentant une duplication partielle de la région 17p11 (382 kb), incluant la totalité du gène PMP22 et une partie des régions régulatrices en 5'-UTR chez des patients atteints de CMT1A. Dans deux autres familles, au sein desquelles les patients présentent un phénotype HNPP, nous avons identifié deux délétions partielles différentes du gène PMP22 : (i) une délétion de 7.7 kb, enlevant la région 5'-UTR et les deux premiers exons du gène dans la première famille ; et (ii) une délétion de 12 kb dans la seconde famille, incluant les exons 1 à 3 du gène PMP22.

Nous discutons l'intérêt de la technique CGH par rapport aux techniques classiquement utilisées dans le diagnostic de ces remaniements dans CMT1A et HNPP, ainsi que de l'existence de possibles corrélations génotype-phénotype au regard des données publiées dans la littérature.

**Mots-clefs :** PMP22, Charcot-Marie-Tooth de type 1A, Neuropathie héréditaire périphérique par hypersensibilité à la pression

## Génétique des populations et maladies complexes

C101/#228

### Etude moléculaire de la polykystose rénale autosomique dominante dans une population Tunisienne : Nouveau polymorphisme identifié.

safa SAHNOUN (1), Samia BARBOUCH (2), Sondess HADJ FREDJ (3), Adel KHEDHER (4), Taieb MESSAOUD (5)

1. laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, hôpital d'enfants Bechir Hamza, tunis, Tunisie
2. Service de médecine A et Néphrologie, Hôpital Charles Nicolle, tunis, Tunisie
3. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, hôpital d'enfants, tunis, Tunisie
4. Service de médecine A et Néphrologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
5. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital d'enfants, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** SAHNOUN SAFA (sahnoun.safa@yahoo.fr)

La maladie polykystique rénale dominante (PKRAD) est la néphropathie héréditaire la plus fréquente de l'adulte, à transmission autosomique dominante. La PKRAD se définit par l'existence de multiples formations kystiques envahissant la totalité du parenchyme des deux reins et aboutissant lentement à l'insuffisance rénale chronique (IRC) terminale (3ème cause d'IRC). Cette néphropathie résulte d'une anomalie génétique soit au niveau du gène PKD1 situé au niveau du chromosome 16 (85% des cas) soit au niveau du gène PKD2 situé au niveau du chromosome 4 (15% des cas).

L'objectif de ce travail est d'identifier les mutations responsables de la PKRAD au niveau du gène PKD1 dans une population Tunisienne.

Notre étude a été menée sur 48 patients (âge moyen 76.00 ± 14.62 ans ; sex-ratio H-F 1 : 1.3) et 52 témoins (âge moyen 70,00 ± 6,32 ans ; sexe ratio hommes-femmes, 1: 1,2) recrutés à partir du service de Néphrologie et Médecine A à l'hôpital Charles Nicolle. Le diagnostic phénotypique est basé sur une échographie abdominale, un dosage de l'urée, de la créatinine, du cholestérol, des triglycérides et un ionogramme. L'étude moléculaire repose sur l'étude du gène PKD1. Un prélèvement sanguin sur EDTA a été réalisé chez tous les sujets suivi d'une extraction d'ADN par la méthode « salting-out ». La recherche des variations nucléotidiques au niveau de la région non-dupliquée du gène PKD1 est effectuée par PCR suivie de DHPLC « Denaturing High Performance Liquid Chromatography ». Les échantillons montrant un profil d'éluion différent du témoin normal utilisés seront soumis à une réaction de séquence.

Plusieurs patients ont montré des profils d'éluions suspects pour différents exons explorés au niveau de la région non-dupliquée du gène PKD1. Les résultats ont permis d'identifier deux mutations (Q3474X et Q3475X) et différents polymorphismes dont un est décrit pour la première fois dans le monde situé au niveau de l'exon 46. Il s'agit du changement d'une cytosine par une thymine à la position 12690 de la séquence nucléotidique. L'acide aminé Asparagine est conservé à la position 4230 de la protéine. Ce polymorphisme a été identifié chez un patient du Nord-Ouest de la Tunisie (Tabarka). Il présente une tension artérielle élevée et une hématurie macroscopique fréquente avec des taux élevés de créatinine et d'urée sanguine.

La sévérité de son tableau clinique peut en effet être expliquée par l'association de facteurs génétiques (mutations, polymorphismes et gènes modificateurs) et des facteurs environnementaux.

L'absence de ce polymorphisme chez nos témoins analysés confirme l'implication de cette variation de séquence dans la survenue de la PKRAD.

Le diagnostic de la PKRAD est essentiellement basé sur l'échographie abdominale et les paramètres biochimiques. Cependant l'identification des mutations responsables reste le seul critère pour la confirmation du diagnostic.

**Mots-clefs :** polykystose rénale, gène PKD1, polymorphismes

## Génétique des populations et maladies complexes

C102/#233

### Etude du marqueur polymorphe *ivs8 tgmtn* : a propos de 50 malades mucoviscidosiques

CHAYMA SAHLI (1), SONDESS HADJ FREDJ (2), AMINA BIBI (2), TAIEB MESSAOUD (2)

1. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, hôpital d'enfants, tunis, Tunisie
2. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, hôpital d'enfants, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** SAHLI CHAYMA (chaymasahli@yahoo.fr)

Depuis l'identification du gène responsable de la mucoviscidose, plus de 1900 mutations sont actuellement décrites. Cette grande hétérogénéité moléculaire permet d'expliquer en partie l'importante variabilité clinique de cette affection. Cette variabilité phénotypique peut être due à des facteurs environnementaux ou à des facteurs génétiques. Avec le développement des techniques de biologie moléculaire, de plus en plus de marqueurs génétiques peuvent être analysés pour la recherche des facteurs génétiques de risque pour la mucoviscidose.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à étudier l'implication du marqueur polymorphe *IVS8TGMtn* au niveau de l'intron 8 du gène *CFTR* sur l'expression clinique de la mucoviscidose chez une population Tunisienne.

Notre étude a été menée sur 50 patients mucoviscidosiques âgés entre 3 mois et 17 ans. L'étude du polyvariant de l'intron 8 a été réalisée par une PCR suivie par une réaction de séquençage.

Cette séquence nucléotidique polypyrimidique polymorphe située dans l'intron 8, juste en amont de l'exon 9 est constituée, selon les cas de 5, 7 ou 9 thymidines.

Les résultats obtenus ont montré la présence de 6 génotypes différents. Nous avons noté la dominance du génotype T7/T7 (54,90%) par rapport au génotype T9/T9 (39,81%). De plus, nous avons noté que l'allèle T9 est associé avec TG9 et TG10 alors que l'allèle T7 a été retrouvé avec TG10 et TG11. Le variant T5 a été identifié chez 4 patients dont 3 portent la mutation E1104X en association avec TG10 et TG11

Selon les données de la littérature, il a été démontré une relation inverse entre la longueur de cette séquence polypyrimidique et la quantité de transcrit *CFTR* délété de l'exon 9, suggérant que le variant 5T pourrait se comporter comme une mutation délétère qui peut expliquer la sévérité de l'état clinique observé chez deux de nos patients présentant une symptomatologie sévère de la maladie associant une atteinte digestive avec insuffisance pancréatique et une atteinte respiratoire.

Notre travail portant sur l'intérêt du polymorphisme *IVS8TGMtn* du gène *CFTR* constitue l'un des premiers travaux effectués dans la population mucoviscidosique Tunisienne. Cette étude nous a permis de montrer l'implication de ce variant sur l'expression clinique de la mucoviscidose et également d'établir des corrélations entre le génotype et le phénotype.

**Mots-clefs :** mucoviscidose, marqueur polymorphe, gène *cftr*

## Génétique des populations et maladies complexes

C103/#259

### Analysis of the serotonin transporter gene SLC6A4 in patients with autism.

Refaat Tabagh (1,3), Christian R. Andres (2,3), Sylviane Vedrine (2), Joelle Martineau (2), Diane Dufour-Rainfray (2,3), Frédérique Bonnet-Brilhaut (2,3), Catherine Barthelemy (2,3), Patrick Vourc'h (2,3)

1. University Of Tripoli, Zoology department, Genetique Section, Tripoli,  
2. INSERM U930 ; University François-Rabelais de Tours ; IFR 135, France  
3. CHRU de Tours, France

**Auteur correspondant :** Tabagh Refaat (refaat\_tb@yahoo.com)

Autism is characterized by impairments in communication, in social interactions, as well as repetitive, restrictive and stereotyped behaviours. A role for the serotonergic system in autism has long been suggested based on its implication in behavioural processes such as social interactions and the frequent observation of elevated levels of blood platelet serotonin in autistic patients. In the present study, we first screened the SLC6A4 gene encoding the serotonin transporter gene (5-HTT) in 85 autistic patients by dHPLC and sequencing. To test for an association between the SLC6A4 gene and autism, we next genotyped four polymorphisms: rs25531 (AP2 transcription factor binding site) and 5-HTTLPR in the promoter, a VNTR in intron 2 and rs3813034 in the 3'UTR. We observed significant differences in allele frequencies of the 5-HTTLPR marker ( $c^2 = 13.38$ ;  $p = 0.00025$ ) and haplotype frequencies ( $c^2 = 13.93$ ;  $p = 0.003$ ) between autistic patients and controls. Indeed compared to controls, autistic patients showed higher frequencies of the Short (S) allele of 5-HTTLPR and the A/S haplotypes (rs25531/5-HTTLPR). These results reinforce the implication of the gene encoding 5-HTT in autism vulnerability and suggest a direct role for the region carrying the S allele of 5-HTTLPR

**Mots-clefs :** AUTISM, serotonin transporter gene SLC6A4, dHPLC and sequencing

## Génétique des populations et maladies complexes

C104/#282

### Deux polymorphismes des gènes ABCC2 et ABCB4 sont indépendamment associés avec la Cholestase Intra-hépatique de la Grossesse

Isabelle Benz-de Bretagne (1), Yannick Bacq (2), Chantal Gendrot (1), Victor Saudemon (1), Hélène Blasco (1), Franck Perrotin (3), Christian R Andres (1), Chantal Le Guellec (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France  
2. Service d'Hépatogastro-entérologie, CHRU de Tours, Tours, France  
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Tours, Tours, France

**Auteur correspondant :** Benz-de Bretagne Isabelle (isabelle.benz-debretagne@univ-tours.fr)

**Introduction:** La Cholestase intra-hépatique de la grossesse (CIG) est une forme particulière de cholestase, liée aux effets des hormones sexuelles sur les transporteurs canaliculaires chez des femmes génétiquement prédisposées. Parmi les transporteurs des acides biliaires, on retrouve notamment MDR3/ABCB4, BSEP/ABCB11 et MRP2/ABCC2. Il a déjà été montré que plusieurs mutations sur le gène ABCB4, et qu'un polymorphisme mononucléotidique (SNP) du gène ABCB11 étaient associés à la CIG. Les données sont moins claires avec ABCC2. Ainsi, nous avons réalisé une étude prospective afin d'évaluer le rôle des polymorphismes de ABCC2 sur le risque de CIG.

**Patients et méthodes:** 42 patientes atteintes de CIG ont été incluses de manière prospective, et comparées à 106 femmes témoins enceintes, évaluées au troisième trimestre de leur grossesse normale. L'ensemble de la région codante du gène ABCB4 avait été précédemment séquencée chez les patientes et les témoins. Trois SNPs de ABCC2, connus pour avoir un impact sur l'activité de MRP2 (rs717620 (c.-24C / T - 5'UTR), rs2273697 (c.1249G / A - exon 10), rs3740066 (c.3972C / T - exon 28)) ont été analysés chez les patientes et les contrôles.

Pour rechercher une association avec la CIG, nous avons comparé les fréquences génotypiques de chaque SNP de ABCC2 et ABCB4 par le test exact de Fisher, dans un modèle dominant ou dans un modèle récessif. Une régression logistique multivariée a été réalisée, incluant tous les SNPs de ABCC2 et ABCB4 significatifs (p

**Résultats:** L'analyse univariée sur le modèle dominant a montré que la proportion de femmes porteuses d'au moins un allèle fréquent pour le SNP c.3972C/T du gène ABCC2 et c.504T/C du gène ABCB4 était significativement plus élevée chez les patientes que chez les témoins. L'analyse multivariée a montré que les SNPs c.3972C/T de ABCC2 et c.504T/C de ABCB4 étaient indépendamment associés à la maladie (OR=2.494 [1.164-5.348] ;  $p=0.019$  et OR=3.012 [1.410-6.410] ;  $p=0.004$  respectivement).

**Discussion et Conclusion:** Ces résultats suggèrent un effet délétère indépendant de ces deux allèles fréquents dans la survenue de la CIG. Ainsi, l'allèle mineur c.3972T (connu pour entraîner une diminution de l'activité de MRP2) serait un facteur protecteur vis-à-vis de la CIG. En effet, sa prévalence plus élevée chez les témoins est compatible avec un modèle physiopathologique d'une sécrétion biliaire diminuée du métabolite glucurono-conjugué de l'estradiol (Ebeta17G) par MRP2. Ce métabolite est connu pour inhiber BSEP du côté biliaire (trans-inhibition). Ainsi, une diminution de son excrétion biliaire entraîne une inhibition moindre de BSEP et aboutit à une protection contre la cholestase.

**Mots-clefs :** Cholestase intra-hépatique de la grossesse, MRP2/ABCC2 (Multidrug-Resistance-associated-Protein 2), MDR3/ABCB4 (Multi-Drug-Resistance 3 protein)



## Génétique des populations et maladies complexes

C105/#287

### Identification d'une nouvelle mutation m.12908T>A au niveau du gène mitochondrial ND5 chez un patient atteint de maladie de pompe

Imen Chamkha (1), Olfa Alila-Fersi (1), Emna Mkaouer-Rebai (1), Hajer Aloulou (2), Chamseddine Kifagi (3), Mongia Hachicha (2), Faiza Fakhfakh (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de Pédiatrie, E.P.S Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Institut de génétique moléculaire de Montpellier, UMR5535, CNRS, Montpellier II, France

**Auteur correspondant :** Chamkha Imen (imen.chamkha@gmail.com)

La maladie de Pompe (ou glycogénose de type 2) est une myopathie métabolique progressive souvent fatale causée par un déficit en alpha-glucosidase acide. Il s'en suit une accumulation anormale de glycogène dans les lysosomes puis finit par altérer la fonction des cellules musculaires ou cardiaques. Elle est donc classée comme une maladie de surcharge lysosomale.

Cette maladie est caractérisée par une large variabilité phénotypique depuis une forme d'apparition précoce chez le nourrisson jusqu'à des formes d'apparition tardive chez l'adulte. La forme d'apparition précoce se caractérise est marquée par une hypotonie majeure et une hypertrophie cardiaque sévère. En l'absence de traitement, l'évolution est généralement fatale lors de la première année de vie. Les formes d'apparition tardive n'ont généralement pas de manifestations cardiaques. La maladie de Pompe est généralement due à des mutations dans le gène GAA provoquant l'absence ou le fonctionnement anormal alpha-glucosidase acide.

Notre étude a porté sur un garçon tunisien âgé de deux mois et atteint d'une cardiomyopathie hypertrophique, une hypotonie globale et une hépatomégalie. Le diagnostic a été au début orienté vers une maladie mitochondriale. En conséquence, nous avons effectué une analyse de l'ADN mitochondrial qui a révélé la présence de 43 polymorphismes dont certains sont associés aux cardiomyopathies et d'une nouvelle mutation m.12908T>A au niveau du gène ND5. Cette variation entraîne la substitution d'un résidu leucine hautement conservé à la position 191 par un résidu glutamine (p.191L>Q). L'analyse des structures secondaire et tertiaire de la protéine MT-ND5 mutée a appuyé le rôle délétère de mutation m.12908T>A. en effet, cette transversion entraîne une diminution de l'hydrophobicité de la protéine et pourrait affecter sa fonction.

Des explorations cliniques et biologiques plus avancées réalisées chez ce patient ont orienté le diagnostic vers une maladie de Pompe. Ce diagnostic a été confirmé par une activité enzymatique effondrée de la maltase acide ainsi que la présence à l'état homozygote d'une délétion de 11pb c.236\_246del dans l'exon 2 du gène GAA (alpha glucosidase acide responsable d'un décalage du cadre de lecture aboutissant à un codon stop prématuré. En absence de traitement spécifique de la maladie, le patient est décédé dans un tableau de détresse respiratoire sévère à l'âge de 3 ans.

**Mots-clefs :** Mutation mitochondriale m.12908T>A, Sous-unité mitochondriale MT-ND5, Maladie de Pompe

## Génétique des populations et maladies complexes

C106/#298

### Etude immunogénétique des adénopathies cervicales d'origine tuberculeuse chez l'enfant

Nidal Alaoui Mrani (1), Safaa Elazbaoui (2), Jamila Elbaghdadi (2), Saloua Ouaraini (3), Ayoub Sabri (2), Samir Siah (4), Hanaa ZAIDI (5)

1. Service de chirurgie pédiatrique P2, Hôpital d'enfant Rabat, Rabat, Maroc
2. Unité de Génétique, Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc
3. Service ORL, Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc
4. Service Réanimation Chirurgicale, Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc
5. Unité de Génétique, Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** ZAIDI Hanaa (hanaa.zaidi@gmail.com)

La tuberculose ganglionnaire est la plus fréquente des tuberculoses extra-pulmonaires dans 70 à 90% à localisations cervicales. La démarche diagnostique est bien codifiée basé sur des examens cliniques et biologiques. L'examen anatomopathologique du ganglion cervical est d'un primordial pour le diagnostic de la maladie. Le traitement médical comporte une quadri-antibiothérapie pendant deux mois suivi d'une bithérapie pendant quatre mois.

De nombreux facteurs de risques socioéconomiques et environnementaux sont associés au développement de la tuberculose ganglionnaire. Cependant, de nombreux individus développent cette pathologie sans aucun facteur de risque identifiable. Ceci suggère qu'il puisse exister des variations génétiques pouvant être associées à la maladie. Plusieurs études ont montré une corrélation entre une diminution des concentrations sériques de protéine MBL (mannose binding lectin) causé par les polymorphismes du gène MBL2, causant des infections bactériennes fréquentes. D'où notre intérêt d'étudier le gène MBL2 pouvant être associée à cette forme de tuberculose.

Nous avons génotypé les polymorphismes au niveau du gène MBL2 chez dix enfants ayant une ou plusieurs adénopathies cervicales d'origine tuberculeuse. Le génotypage du gène MBL2 consiste en une PCR (Polymerase Chain Reaction) suivie d'un séquençage permettant la mise en évidence la présence de plusieurs variations déjà décrites : rs7096206 au niveau du promoteur, et rs7095891 au niveau de la région 5' UTR, et le rs1800450 (codon54) au niveau de l'exon1 et le rs930507 au niveau de l'exon4. Nous avons aussi mis en évidence une mutation au niveau de l'exon 2 entraînant un changement d'acide aminé Sérine en Isoleucine.

Ces changements d'acides aminés pourraient engendrer des altérations structurales dans le domaine collagénique de la protéine et sont responsables d'un faible taux de protéine MBL circulante ainsi que d'une diminution de son activité biologique.

Ainsi, ces polymorphismes peuvent avoir un rôle crucial dans la réponse immunitaire innée entraînant ainsi la susceptibilité à la tuberculose ganglionnaire.

**Mots-clefs :** Tuberculose ganglionnaire, Prédisposition génétique, Le gène MBL2

## Génétique des populations et maladies complexes

C107/#323

### Le polymorphisme rs1044925 du gène ACAT1 dans la variabilité des paramètres lipidiques chez les donneurs de sang au Sénégal

Rokhaya Ndiaye (1), Fatou Guèye Tall (1), Pape Madièye Guèye (1), Oumar Faye (2), Philomène Lopez Sall (1), Aynina Cissé (1), Papa Amadou Diop (1)  
1. Laboratoire de Biochimie Pharmaceutique, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Senegal  
2. Laboratoire de Cytologie Clinique, Cytogénétique, Biologie de la Reproduction et du Développement, Hôpital Aristide Le Dantec, Dakar, Senegal

**Auteur correspondant :** Ndiaye Rokhaya (dabaf@yahoo.fr)

Le gène ACAT1 (Acyl-CoA : Cholesterol Acyl transférase 1) est impliqué dans le métabolisme du cholestérol. L'association du polymorphisme rs1044925 du gène ACAT1 (A/C) avec les taux de lipides sériques a été étudiée sur des populations d'origine raciale différente, en Asie et en Europe mais ne l'est pas encore dans la population noire Africaine. La présente étude a été réalisée afin d'étudier l'association entre le polymorphisme rs1044925 du gène ACAT1 et les paramètres lipidiques dans une population noire sénégalaise. Cinquante et un sujets donneurs de sang supposés bien portant ont été recrutés au Centre National de Transfusion Sanguine de Dakar. L'ADN a été extrait à partir de sang total et le génotype du polymorphisme rs1044925 du gène ACAT1 a été réalisé par PCR-RFLP. La fréquence des allèles A et C était respectivement de 67% et 33%. Et celle des génotypes AA, AC, CC étaient de 46%, 42%, et 12% respectivement. Quant aux paramètres lipidiques, les valeurs étaient dans les limites physiologiques. Nous n'avons pas retrouvé de différence significative des paramètres lipidiques selon le sexe ( $p=0,38$  pour le cholestérol total,  $p=0,89$  pour le cholestérol-HDL,  $p=0,277$  pour le cholestérol-LDL,  $p=0,952$  pour les triglycérides,  $p=0,7$  pour l'indice athérogène). De même nous n'avons pas retrouvé une corrélation significative entre les génotypes AA, AC et CC et les paramètres lipidiques ( $p=0,645$  pour le cholestérol total,  $p=0,799$  pour le cholestérol-HDL,  $p=0,364$  pour le cholestérol-LDL,  $p=0,359$  pour les triglycérides,  $p=0,422$  pour l'indice athérogène). Il en est de même pour les porteurs de l'allèle muté (AC/CC) par rapport au génotype sauvage (AA) ( $p=0,366$  pour le cholestérol total,  $p=0,97$  pour le cholestérol-HDL,  $p=0,162$  pour le cholestérol-LDL,  $p=0,157$  pour les triglycérides,  $p=0,439$  pour l'indice athérogène). Ces résultats suggèrent que le polymorphisme rs1044925 du gène ACAT1 n'est pas impliqué dans la variabilité des paramètres lipidiques dans la population noire sénégalaise et ne serait donc pas un facteur de risque génétique dans la survenue des maladies cardiovasculaires.

**Mots-clefs :** Gène ACAT1, Paramètres lipidiques, Sénégal

## Génétique des populations et maladies complexes

C108/#325

### Origine et diffusion de la mutation p.Phe508del du gène CFTR en Europe : Quand, où et pourquoi ?

Emmanuelle Génin (1), Karine Giteau (2), Thomas Frischer (3), Sabina Renner (4), Katrina Riss (4), David Barton (5), Melissa Rogers (5), Mourad Sahbatou (6), Karen Rouault (7), Yann Fichou (8), Cédric Le Maréchal (9), Philip Farrell (10), Claude Férec (11)  
1. UMR1078, Inserm, CHRU, Brest, France  
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU Brest, Brest, France  
3. Department of Paediatrics and Adolescent Medicine, Medical University Vienna, Vienna, Australie  
4. Department of Paediatrics and Adolescent Medicine, Medical University Vienna, Vienna, Autriche  
5. National Centre for Medical Genetics, Our Lady's Children's Hospital, Dublin, Irlande  
6. Centre d'étude du polymorphisme humain, Fondation Jean Dausset, Paris, France  
7. UMR1078, CHRU Brest, Brest, France  
8. UMR1078, Etablissement Français du Sang, Brest, France  
9. UMR1078, Université de Bretagne Occidentale, CHRU, EFS, Brest, France  
10. Departments of Pediatrics and Population Health Sciences, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health, Madison, USA  
11. UMR1078, Inserm, CHRU, Université de Bretagne Occidentale, EFS, Brest, France

**Auteur correspondant :** Génin Emmanuelle (emmanuelle.genin@inserm.fr)

La mutation p.Phe508del du gène CFTR impliquée dans la mucoviscidose a été l'objet de nombreuses études qui ont cherché à comprendre son origine et sa dispersion en Europe. Les résultats obtenus sont cependant très discordants puisque les datations varient entre 3 000 et 52 000 ans. La plupart de ces études ont été réalisées à partir d'échantillons provenant de populations européennes différentes et n'ont pas utilisé les mêmes méthodes de datation.

Dans cette étude, nous avons réévalué la question de l'origine de cette mutation à partir de données haplotypiques sur un ensemble de patients atteints de mucoviscidose porteurs de la mutation p.Phe508del provenant de différentes populations européennes (Albanie (N=12), Autriche (N=42), France (Bretagne) (N=32), Grèce (N=48), Irlande (N=20), République Tchèque (N=18), Russie (N=22)). Les patients et leurs parents ont été génotypés pour 10 marqueurs microsatellites situés autour du gène CFTR et les haplotypes porteurs de la mutation ont été reconstruits. L'âge de l'ancêtre commun le plus récent a été estimé dans chacune des populations à l'aide du programme Estiage.

La mutation p.Phe508del est retrouvée sur un même fond haplotypique dans toutes les populations ce qui indique bien un effet fondateur unique en Europe. Les estimations obtenues à l'aide du programme Estiage nous permettent de proposer un scénario dans lequel les mutations p.Phe508del observées actuellement en Europe descendraient toutes d'une mutation ancestrale portée par un ancêtre qui aurait vécu en Europe centrale à l'âge du Bronze (vers 2 600 avant JC). La diffusion de la mutation vers l'Ouest de l'Europe aurait alors été favorisée par les échanges maritimes qui semblent avoir été très actifs tout au long de l'âge de bronze comme l'indiquent les découvertes archéologiques récentes. Les résultats des datations relativement proches dans les différentes populations semblent indiquer que cette diffusion se serait faite rapidement ce qui pourrait s'expliquer par un avantage sélectif des porteurs de la mutation. Au total, en combinant des données provenant de plusieurs populations européennes et une analyse haplotypique fine, nous avons pu proposer un nouveau scénario cohérent avec les connaissances archéologiques actuelles pour expliquer le quand, le où et le pourquoi de la diffusion de la mutation p.Phe508del en Europe.

**Mots-clefs :** datation, histoire des populations, mutations CFTR

## Génétique des populations et maladies complexes

C109/#354

### Implication du marqueur M470V dans l'expression clinique de la mucoviscidose dans une population Tunisienne

malek NEFZI (1), sondess HADJ FREDJ (1), amina BIBI (2), taieb MESSAOUD (2)

1. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, hôpital d'enfant, tunis, Tunisie
2. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, hôpital d'enfant, tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** NEFZI MALEK (nefzizmalek@gmail.com)

Depuis la description du gène CFTR responsable de la mucoviscidose, plus de 1900 mutations ont été rapportées à travers le monde documentant l'extrême variabilité génotypique et phénotypique de la pathologie. L'étude des corrélations phénotype-génotype s'avère essentiel dans ce type de maladie multifactorielle afin de mieux comprendre leur expression clinique. L'objectif de ce travail consiste à l'étude de la répartition génotypique et allélique du polymorphisme M470V dans une population Tunisienne ainsi que d'établir son implication chez les patients mucoviscidosiques en association avec la mutation la plus commune F508del.

Notre étude a porté sur 34 sujets mucoviscidosiques dont l'âge varie entre 3 jours et 12 ans (avec une médiane de 5 mois). Une population témoin de 50 sujets sains a été également incluse dans notre étude. Le génotypage consiste à la recherche du marqueur M470V par la technique PCR-RFLP. L'étude statistique a été réalisée par le logiciel SPSS (version 20.0) pour le calcul des fréquences et le logiciel THESIAS pour l'étude des associations et la reconstruction des haplotypes à partir des génotypes.

L'analyse de la distribution allélique montre la prédominance de l'allèle sauvage M470 par rapport à l'allèle muté V470 chez les patients (86.7% vs 13.3%) et les témoins (60% vs 40%) étudiés. Une différence significative a été notamment observée chez les deux populations au niveau de la distribution des génotypes (M470/M470) et (M470/V470) ainsi qu'au niveau de la répartition allélique appuyant l'hypothèse de l'implication du polymorphisme M470V dans l'expression de la maladie. L'analyse des associations entre ce marqueur et la mutation F508del montre la présence d'un déséquilibre de liaison ( $D'=0.81$ ,  $p=0.001$ ) permettant ainsi de rapporter des informations concernant l'origine de cette mutation délétionnelle et présentant un support pour le diagnostic de la mucoviscidose en Tunisie. Par ailleurs, l'étude des cadres haplotypiques chez notre groupe de malade a permis de souligner la prédominance de l'haplotype F508del-M470 (61.67%) suivi de l'haplotype Non-F508del-M470 (25.09%). L'analyse des associations entre les différents loci nous permet d'établir les relations entre le phénotype et le génotype afin de mieux comprendre l'expression clinique de la maladie. En effet, les malades porteurs de l'haplotype F508del-M470 présentent un tableau clinique diversifié dominé par l'atteinte digestive et une précocité dans l'âge de l'apparition des signes cliniques évocateurs de la pathologie.

Notre travail, portant sur l'intérêt du polymorphisme M470V du gène CFTR, constitue l'un des premiers travaux effectués dans la population mucoviscidosique Tunisienne et confirme l'utilité de ce marqueur d'une part dans l'étude de l'origine du locus CFTR et d'autre part dans le diagnostic moléculaire de la mucoviscidose dans la population Tunisienne et l'étude de la variabilité de son expression clinique.

**Mots-clés :** mucoviscidose, gène CFTR, M470V

## Génétique des populations et maladies complexes

C110/#410

### Evaluation du risque de fièvre méditerranéenne familiale chez les porteurs hétérozygotes de mutations MEFV

Isabelle Jéru (1), Véronique Hentgen (2), Emmanuelle Cochet (3), Philippe Duquesnoy (1), Gaëlle Le Borgne (1), Emmanuel Grimprel (4), Katia Stankovic Stojanovic (5), Sonia Karabina (1), Gilles Grateau (5), Serge Amselem (1)

1. UMR\_S933, INSERM, Paris, France
2. CeRéMAI, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France
3. Service de Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Service de Médecine Interne, Hôpital Tenon, Paris, France

**Auteur correspondant :** Jéru Isabelle (isabelle.jeru@trs.aphp.fr)

Introduction. La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie autoinflammatoire autosomique récessive due à des mutations du gène MEFV. C'est une des maladies génétiques les plus fréquentes dans les populations méditerranéennes. L'observation de nombreux patients hétérozygotes chez lesquels l'existence d'un second allèle MEFV muté a été exclue a conduit à proposer que l'hétérozygotie pourrait être causale. Cependant, il peut s'agir dans de nombreux cas d'une coïncidence, compte-tenu du taux très élevé de mutations dans les populations méditerranéennes. L'objectif de cette étude était de quantifier la contribution de l'hétérozygotie à la maladie afin d'améliorer le conseil génétique et la prise en charge des patients. Résultats. A l'échelle des populations, on ne détecte pas de contribution de l'hétérozygotie : la prévalence observée de la FMF est inférieure à celle calculée pour une transmission restreinte au mode autosomique récessif. Sur 69 formes familiales étudiées, 92% des frères et sœurs malades de probands porteurs de 2 allèles MEFV mutés sont également porteurs de deux mutations. Les 8% restants sont hétérozygotes, la moitié présentant des signes inflammatoires mineurs. L'étude de 557 patients issus de quatre populations méditerranéennes différentes nous a permis de montrer que, parmi les patients non expliqués génétiquement, le ratio (hétérozygotes / non porteurs) est significativement plus élevé chez les patients que chez des sujets sains de même origine (p

Conclusion. Cette étude constitue la première démonstration statistique que l'hétérozygotie représente un facteur de susceptibilité à des formes de FMF multifactorielles. Nous proposons également une première évaluation du risque pour les hétérozygotes de développer la maladie.

**Mots-clés :** fièvre méditerranéenne familiale, MEFV, maladie autoinflammatoire

## Génétique des populations et maladies complexes

C111/#415

### Hypertriglycéridémies majeures de la grossesse : un risque génétique composite associé au complexe lipolytique endothélial.

Laetitia BOIDIN-CESCHINI (1), Sandrine MARY (1), Cyrielle GESQUIERE (1), Marion WILLEFERT (1), Christine CHABROL (1), Bruno DONADILLE (2), Sylvie HIERONIMUS (3), Michel KREMPF (4), René VALERO (5), Caroline VINCENT DEJEAN (6), Pascale BENLIAN (1)

1. U4M - Institut de Biochimie Biologie Moléculaire, CHRU Lille, LILLE, France
2. Endocrinologie Métabolisme - Hôpital St Antoine, HUEP - AHP, PARIS, France
3. Endocrinologie Métabolisme - Hôpital Archet 2, CHU Nice, NICE, France
4. Métabolisme - Nutrition, Hôpital Laennec, CHU Nantes, NANTES, France
5. Métabolisme - Nutrition, Hôpital Timone, APHM, MARSEILLE, France
6. Endocrinologie Métabolisme - Hôpital Pasteur, CH Chartres, CHARTRES, France

**Auteur correspondant :** BENLIAN Pascale (pascale.benlian@inserm.fr)

**Contexte:** Une hypertriglycéridémie (HTG) physiologique oestrogène-dépendante est courante au cours du 3<sup>e</sup> trimestre de la grossesse normale, chez des femmes habituellement normolipidémiques. Bien qu'exceptionnelles, les hypertriglycéridémies majeures (HTG avec hyperchylomicronémie) peuvent avoir des conséquences sévères voire létales pour la mère et l'enfant, du fait du risque de pancréatite aiguë en prénatal tardif, en périnatal ou au cours de l'allaitement. Cette complication peut résulter de mutations ou de variations sur les gènes régulateurs ou constitutifs du complexe lipolytique endothélial, dans des conditions métaboliques, nutritionnelles ou endocriniennes qui débordent des capacités enzymatiques constitutivement subnormales de la lipoprotéine lipase (LPL). Actuellement, seules des données éparses sur les mutations du locus LPL ont été rapportées, mais aucune analyse extensive du complexe lipolytique n'a été réalisée à ce jour dans les HTG majeures de la grossesse.

**Objectifs:** Explorer les composants génétiques validés du complexe lipolytique endothélial dans la prédisposition génétique aux HTG majeures compliquées ou non de pancréatite aiguë au cours de la grossesse.

**Patientes and Méthodes:** Patientes ayant présenté des TG>10g/L à 12h de jeûne, au cours du 3<sup>e</sup> trimestre de la grossesse ou en post-partum précoce et ayant consenti à un test génétique associé à une mesure de l'activité LPL post-héparine par spectrofluorimétrie (Progen). Les loci APOA5, APOC2, APOE, GPIHBP1, LMF1 et LPL ont fait l'objet d'un séquençage Sanger (Life Technologies) et d'une analyse bioinformatique ciblée par Gensearch (Phenosystems). Les gros réarrangements géniques de la LPL ont été analysés par MLPA (MRC-Holland).

**Résultats:** Parmi 13 femmes âgées de 23-38 ans, qui se savaient normolipidémiques avant la grossesse, 12 ont expérimenté une HTG majeure (11-158 g/L) en fin de grossesse; 1 au cours du 1<sup>er</sup> mois post-partum. Une pancréatite aiguë est survenue chez 6 d'entre-elles ; des épisodes récurrents de douleurs épigastriques chez 2 patientes. Une notion familiale de dyslipidémie existait dans 8 cas. Les taux de HDLC étaient très bas (0,24±/-8 g/L) concordants avec une activité LPL basse à indétectable chez 6 patientes. L'ensemble des patientes retrouvaient une formule lipidique normale dès 2 semaines post-partum. Des mutations et variations du complexe lipolytique endothélial ont été retrouvées chez 11 patientes; 8 étant porteuses d'anomalies composites le plus souvent hétérozygotes des gènes LPL, APOA5, APOE et GPIHBP1.

**Conclusion:** Un génotype composite du complexe lipolytique endothélial est causal dans 85% des cas d'HTG majeures compliquées de pancréatite aiguë au cours de la grossesse. L'importance de ce risque pourrait justifier la recherche de cette prédisposition, chez des femmes normolipidémiques désireuses de grossesse, ayant des antécédents familiaux de dyslipidémies associées au complexe lipolytique.

**Mots-clés :** Hypertriglycéridémie, Pancréatite, Grossesse

## Génétique des populations et maladies complexes

C112/#425

### Plateforme d'Investigation en Génétique et Epidémiologie des cancers (PIGE)

Séverine Eon-Marchais (1), Eve Cavaciuti (1), Morgane Marcou (1), Dorothée Le Gal (1), Juana Beauvallet (1), Noura Mebirouk (1), Angeline Fescia (1), Martine Labbé (1), Marie-Gabrielle Dondon (1), Fabienne Lesueur (1), Nadine Andrieu (1)

1. Biostatistiques, Inserm U900 - Mines ParisTech - Institut Curie, Paris cedex 05, France

**Auteur correspondant :** Eon-Marchais Séverine (severine.eonmarchais@curie.fr)

L'épidémiologie génétique est l'étude des facteurs génétiques influant sur le risque de développer une maladie donnée. L'estimation de l'effet des facteurs génétiques et non génétiques permet d'améliorer la prise en charge des patients. Pour mener à bien de telles études et faire face au nombre croissant de projets d'épidémiologie génétique nationaux et internationaux, nous avons mis en place une Plateforme d'Investigation en Génétique et Epidémiologie des cancers (PIGE). Elle entre dans le cadre de la labellisation SiRIC de l'Institut Curie (2012-2016) et regroupe le savoir-faire nécessaire à la mise en place d'études grâce à l'expérience des membres de l'équipe de l'unité Inserm U900 (attachés et techniciens de recherche épidémiologique, ingénieurs data-manager, chercheurs). La PIGE participe à l'élaboration des protocoles (stratégies, calcul de puissance,...), la rédaction, la soumission légale aux agences réglementaires (CNIL, CPP,...) et aux demandes de financement. Elle organise également la logistique des études, rédige les divers documents (fiches d'information et consentements éclairés, questionnaires...). Elle développe les bases de données, y enregistre les données cliniques, familiales, épidémiologiques, biologiques et les données de gestion des études, vérifie leur cohérence, optimise l'inclusion des sujets et leur suivi pour les études prospectives, assure les retours vers les centres médicaux ou les patients en fonction du protocole. Enfin, elle établit les états d'avancement des études. La PIGE regroupe diverses spécialités garantissant une approche adaptée aux questions posées pour la construction ou la faisabilité des projets, le respect des protocoles et la qualité des données recueillies.

La plateforme coordonne actuellement plusieurs études nationales qui portent sur l'identification et la caractérisation des facteurs génétiques de risque de cancer du sein en se basant sur des données épidémiologiques et génétiques au niveau familial (CoF-AT, GENESIS). Elle construit de nouveaux projets en collaboration avec les médecins et les chercheurs afin de répondre à leurs questions (GENEUROK, Radioassays, Base de Tumeurs Rares, etc.) et intervient également dans des protocoles institutionnels nationaux (SIGNAL1-SIGNAL2) dont le protocole déjà en place nécessite rigueur et savoir-faire.

Cette plateforme est un outil optimisé pour la mise en place et la conduite d'études d'épidémiologie génétique qui peut vous être utile. N'hésitez pas à nous contacter (severine.eonmarchais@curie.fr) !

**Mots-clés :** Epidémiologie génétique, Cancer, Plateforme d'investigation



## Génétique des populations et maladies complexes

C113/#445

### Première description de la mutation 3121-1G->A chez un patient mucoviscidose Tunisien

Monia Boudaya (1), Sondess Hadj Fredj (1), Amina Bibi (1), Hajer Siala (1), Sami Jabnoun (2), Taieb Messaoud (1)

1. Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, hôpital d'enfants Béchir Hamza, Tunis, Tunisie

2. Service de pédiatrie Centre de Maternité et de Néonatalogie, hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** boudaya monia (monia.boudaya@yahoo.fr)

Première description de la mutation 3121-1G->A chez un patient mucoviscidose Tunisien

Boudaya M1, Hadj Fredj S 1, Siala H 1, Bibi A 1, Jabnoun S2, Messaoud T1.

1-Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire. Hôpital d'enfants Bechir Hamza-Tunis.

2- Service de pédiatrie – Centre de Maternité et de Néonatalogie la Rabta.

**Mot clés :** gène CFTR, mutation 3121-1G-> A, mutation juive

La mucoviscidose encore appelée fibrose kystique du pancréas, est la plus fréquente des maladies autosomiques récessives graves de la population Caucasienne. Elle touche environ 1/2500 nouveau-nés en Europe. De nos jours, plus de 1900 mutations ont été mises en évidence, le type et la fréquence de la mutation varie selon l'origine ethnique et géographique. Dans le présent travail, nous rapportons la première description de la mutation 3121-1G->A chez un patient mucoviscidose Tunisien. Notre étude a porté sur une famille originaire du Sud Tunisien (Tozeur) ayant un nouveau-né âgé de 5 mois et demi dont le test de la sueur positif à deux reprises est réalisé par la technique de l'iontophorèse à la pilocarpine. Une analyse moléculaire des 27 exons du gène CFTR a été effectuée par la technique de la chromatographie liquide haute performance en conditions dénaturantes (DHPLC) suivie d'une réaction de séquençage. Les résultats obtenus nous ont permis d'identifier au niveau de l'exon 17a, la mutation 3121-1GàA à l'état homozygote, il s'agit d'une substitution d'une guanine par une adénine. Cette mutation intronique est identifiée pour la première fois en Tunisie. Selon la littérature, il semble que cette variation est spécifique à la population Juive puisqu'elle n'a été identifiée que chez des enfants mucoviscidosiques d'origine Juive. L'identification de cette mutation pourrait être expliquée par la présence d'une communauté juive au niveau de notre population.

Cette étude moléculaire va nous permettre d'une part, d'élargir le spectre mutationnel de la mucoviscidose dans notre pays et d'autre part d'affiner le conseil génétique et le diagnostic prénatal.

**Mots-clés :** gène CFTR, mutation 3121-1G->A, mutation juive

## Génétique des populations et maladies complexes

C114/#472

### Les mutations du gène soumis à empreinte maternelle MKRN3 sont une cause fréquente de puberté précoce centrale isolée

Ibrahima Ba (1), Nancy Mekhail (2), Dominique Simon (2), Anna Paulsen (2), Delphine Zenaty (2), Muriel Houang (3), Monique Jesuran-Perelroizen (4), Gianpaolo De Filippo (5), MariaCarolina Salerno (6), Jean-Claude Carel (2), Julianne Léger (2), Nicolas de Roux (1)

1. Laboratoire de Biochimie-Hormonologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France  
2. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France  
3. Unité d'Endocrinologie Clinique et de Gynécologie de l'enfant, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France  
4. Endocrinologie-Pédiatrique, Toulouse, France  
5. Service d'Endocrinologie, Centre hospitalier "G. rummo", Benevento, Italie  
6. Service d'Endocrinologie pédiatrique, CHU "Federico II", Naples, Italie

**Auteur correspondant :** de Roux Nicolas (nicolas.deroux@inserm.fr)

La puberté précoce centrale (PPC) est définie par l'apparition des premiers signes pubertaires avant 8 ans chez la fille et 9 ans chez le garçon suite à une réactivation hypothalamo-hypophysaire trop précoce de l'axe gonadotrope. Les PPC sont majoritairement idiopathiques (PPCi), les étiologies neurogènes sont peu fréquentes. Une étude récente a montré que la PPCi est familiale dans environ 30% des cas. Le modèle de transmission de la PPCi est complexe. Récemment, des mutations dans le gène soumis à empreinte maternelle, MKRN3, ont été décrites dans 5 cas de PPCi familiale par une équipe Brésilienne. Le but de ce travail était d'étudier la fréquence des mutations de MKRN3 dans la PPCi et de réaliser une analyse détaillée du phénotype des patients mutés.

59 cas index de PPCi ont été inclus dans cette analyse sur les critères suivants : développement des seins avant 8 ans chez la fille, augmentation du volume testiculaire avant 9 ans chez le garçon, avec ou sans pilosité pubienne dans les deux sexes, une avance d'âge osseux avec accélération de la vitesse de croissance staturale, un bilan biologique démontrant le caractère central de la puberté précoce (augmentation de la LH de base et sous stimulation par la GnRH), et une IRM cérébrale normale. Dans 38 cas, la PPCi était familiale, 21 cas étaient sporadiques. Le gène MKRN3 a été séquencé par la méthode de Sanger à partir de l'ADN extrait des lymphocytes circulants. 4 mutations faux sens hétérozygotes (c.89C>T ; c.943A>G ; c.982C>T ; c.1118C>T), une insertion hétérozygote (482dupC) et une délétion hétérozygote (802-803del) ont été trouvés chez 11 cas index, uniquement des filles, parmi les 38 cas familiaux. Aucun cas sporadique n'était muté. 5 mutations sur 6 ne sont pas décrites dans les bases de données (1000 génomes, dbSNP, HapMap, HGMD). L'analyse familiale a retrouvé la mutation chez la ou les sœurs qui présentaient aussi une puberté précoce et confirmé la transmission par le père. L'analyse du phénotype chez les sujets mutés montre un âge de début de la puberté entre 3,5 et 7,5 ans, et une réponse explosive de la LH au test GnRH alors que le niveau de base de la LH plasmatique était parfois bas. Le reste du phénotype est sans particularité.

Ce travail montre la fréquence élevée (30%) des mutations de MKRN3 dans la PPCi familiale. Il confirme la transmission dominante d'un phénotype du à une mutation dans un gène soumis à empreinte maternelle. Il permet de classer MKRN3 dans la famille des gènes hétérochroniques. Le bilan biologique de l'axe gonadotrope indique que le mécanisme physiopathologique de la PPCi par mutation de MKRN3 pourrait être d'origine hypothalamique mais également hypophysaire ce qui était inattendu. La caractérisation de la fonction de MKRN3 dans l'ubiquitination des protéines permettra de mieux comprendre l'accélération spécifique de la maturation de l'axe gonadotrope chez ces enfants.

**Mots-clés :** Puberté précoce centrale isolée, MKRN3, gène à empreinte

## Génétique des populations et maladies complexes

C115/#483

### Hémochromatose HFE : les grossesses diminuent-elles réellement l'expression phénotypique chez les femmes ?

Marianne Uguen (1), Philippe Saliou (2), Gérald Le Gac (3), Marie-Christine Mérour (4), Céline Tripogney (4), Brigitte Chanu (4), Isabelle Gourlaouen (4), Jean-Baptiste Noursbaum (5), Claude Férec (3), Virginie Scotet (1)

1. U1078, Inserm, Brest, France
2. Laboratoire d'hygiène et de santé publique, Hôpital Morvan, Brest, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Morvan, Brest, France
4. Site de Brest, EFS-Bretagne, Brest, France
5. Service d'hépatogastroentérologie, Hôpital La Cavale Blanche, Brest, France

**Auteur correspondant :** Scotet Virginie (virginie.scotet@inserm.fr)

**Introduction :** L'hémochromatose liée au gène HFE est une maladie innée du métabolisme du fer particulièrement fréquente dans les populations d'Europe du Nord. Elle est très majoritairement associée au génotype p.Cys282Tyr homozygote, dont l'expressivité est influencée par des facteurs génétiques et environnementaux. La maladie se manifeste plus tardivement chez les femmes en raison de l'effet protecteur des pertes de sang physiologiques. Il est communément admis que les grossesses protègent de la maladie, mais cette affirmation n'est supportée par aucune étude épidémiologique. Notre objectif était donc d'étudier le rôle des grossesses sur le degré de surcharge en fer chez les patientes portant le génotype C282Y/C282Y.

**Méthode :** L'étude s'est appuyée sur les patientes admises dans un protocole de saignées au sein du centre de santé brestois de l'EFS entre 2004 et 2011 (n=148). Les données ont été colligées via un questionnaire médical rempli à l'inclusion. L'impact des grossesses sur le degré de surcharge en fer (mesuré par la concentration de la ferritine et la quantité de fer soustraite par saignées, log-transformées) a été évalué par régression linéaire multiple.

**Résultats :** Notre étude confirme que l'âge au diagnostic est plus tardif chez les femmes (52,6 vs. 47,3 ans, p=0,0003) et que le sex-ratio diminue avec l'âge au diagnostic. Les femmes représentent ainsi 37,6 % des patients diagnostiqués avant 50 ans versus 65,2 % après 60 ans (sex-ratio : 1,66 vs. 0,53, p=0,0002). Les co-facteurs sont également moins fréquents chez les femmes (surpoids : 30,6 vs. 48,1 %, p=0,0019 ; consommation excessive d'alcool : 4,7 vs. 15,3 %, p=0,0021).

Le nombre de grossesses avant l'inclusion oscille entre 0 et 6 (moyenne : 2,4) et l'âge au diagnostic augmente significativement avec ce paramètre (en moyenne de 3,5 ans par grossesse, p=0,0001). En revanche, l'étude de l'influence des grossesses sur les paramètres sériques n'a pas révélé d'association significative, ni de relation dose-effet, ce quel que soit le codage retenu. La quantité de fer soustraite tendait même à être plus élevée chez les femmes ayant eu 2 grossesses ou plus en analyse univariée (exp(beta)=1,40, IC95 % : [0,99-1,99], p=0,0603), mais ceci n'a pas été confirmé après ajustement sur les facteurs de confusion potentiels (p=0,3294).

**Conclusion :** Notre étude ne confirme pas le rôle protecteur généralement attribué aux grossesses sur l'expressivité du génotype p.Cys282Tyr homozygote. On peut considérer que cette hypothèse est plus difficile à démontrer aujourd'hui (compte-tenu de la diminution du taux de fécondité dans notre pays) et que les pertes menstruelles doivent jouer un rôle modificateur plus important. Nos résultats concordent avec ceux d'une étude expérimentale qui a montré que les grossesses multiples ne réduisaient pas les réserves en fer chez les souris HFE -/-.

**Mots-clefs :** Hémochromatose HFE, Expression phénotypique, Impact des grossesses

## Génétique des populations et maladies complexes

C116/#499

### Etude des exomes de 16 cas apparentés de dysplasie fibromusculaire artérielle

Romuald Kiando (1), Pierre-François Plouin (2), Xavier Jeunemaitre (3), Nabila Bouatia-Naji (1)

1. INSERM UMR 970, PARIS Centre de recherche Cardiovasculaire (PARCC), Université Paris-Descartes, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Service d'hypertension HEGP, Université Paris-Descartes, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. INSERM UMR 970, PARIS Centre de recherche Cardiovasculaire (PARCC), AP-HP, Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital Européen Georges Pompidou, Université Paris-Descartes, Paris, France

**Auteur correspondant :** Bouatia-Naji Nabila (nabila.bouatia-naji@inserm.fr)

**Introduction.** La dysplasie fibromusculaire artérielle (DFM) est une maladie non inflammatoire, et non athéromateuse caractérisée par des sténoses des artères rénales (70 %) et des carotides (30 %). Elle prédispose à l'hypertension, et dans certains cas à l'accident vasculaire cérébral. La DFM touche essentiellement les femmes (80%) de moins de 50 ans avec une prévalence estimée à 4/1000. Le caractère héréditaire de la DFM est démontré mais il existe très peu d'études génétiques, à cause de son caractère rare et de la difficulté d'établir un diagnostic. Aucun gène responsable de cette maladie n'a jusqu'à présent été identifié et la physiopathologie de la DFM est totalement inconnue. L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact de variants génétiques rares codants dans l'étiologie de la DFM par une approche de séquençage d'exomes chez des patients apparentés.

**Patients et méthodes.** Nous avons étudié 7 fratries comprenant 16 femmes atteintes par la DFM rénale. Le diagnostic a été établi par angiographie rénale ou scanner à un âge moyen de 44 ans. La capture des exons a été réalisée par le kit Agilent® (V4) et le séquençage a été effectué dans un appareil HiSeq2000 Illumina®. L'ensemble des étapes de séquençage et du traitement bioinformatique a été réalisé par la société IntegraGen®. La couverture médiane dans l'ensemble des données de séquençage est de 54X (minimum de 8X).

**Résultats et discussion.** Nous avons identifié 4311 variants non-synonymes, indel ou variants d'épissage (MAF

**Conclusion.** Notre étude menée chez 16 patients de la DFM rénale n'a pu aboutir à l'identification d'un gène majeur causatif pour la DFM, ce qui est un argument fort pour une hétérogénéité génétique de cette maladie. La validation des gènes candidats identifiés nécessite leur re-séquençage direct chez plus de patients de la DFM afin de confirmer ces résultats préliminaires.

**Mots-clefs :** dysplasie fibromusculaire artérielle, séquençage d'exome, intégrité de la matrice extracellulaire

## Génétique des populations et maladies complexes

C117/#507

### Hémochromatose de type 1 Gène HFE Erreur dans le génotypage de H63D

Laurence STROMPF (1), Vanna GEROMEL (1), Cédric LE MARECHAL (2), Christophe RONSIN (1)

1. Département de Biologie Moléculaire Génétique, BIOMNIS, Ivry-sur-Seine, France  
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, C.H.U. de Brest, Brest, France

**Auteur correspondant :** STROMPF Laurence (laurence.strompf@biomnis.com)

L'hémochromatose génétique liée au gène HFE-1 est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive. Cette affection est caractérisée par une absorption intestinale en fer anormalement élevée, au-delà des seuls besoins physiologiques, entraînant une surcharge progressive en fer des cellules parenchymateuses de nombreux tissus et organes. La symptomatologie clinique s'exprime habituellement chez l'homme entre 30 et 40 ans et plus tardivement chez la femme en raison d'une relative protection du fait des pertes menstruelles et des grossesses.

Son diagnostic est porté par la mise en évidence d'une homozygotie de la mutation p.Cys282Tyr ([p.Cys282Tyr]+[p.Cys282Tyr]) du gène HFE-1 ou, dans une moindre mesure, d'une hétérozygotie composite de la mutation p.Cys282Tyr (C282Y) et p.His63Asp (H63D) ([p.Cys282Tyr]+[p.His63Asp]).

La fréquence allélique de la mutation C282Y est de l'ordre de 5 à 10% dans la population d'Europe du nord tandis que celle de la mutation H63D est supérieure, de l'ordre de 15 à 20%.

Un dépistage de l'hémochromatose, recherche des mutations C282Y et H63D, a été demandé chez une patiente présentant un bilan martial perturbé : Fer Sérique 216 µg/100 ml (n< 193), Transferrine 3.87 g/l (nG (p.Tyr61Cys), située en cis de la mutation p.Cys282Tyr, générant par cette cystéine une potentialité de création d'un pont disulfure. Néanmoins, cette patiente présentant déjà une hétérozygotie composite, dans le contexte d'une pathologie de pénétrance variable, l'impact de ce nouveau variant est difficilement interprétable. En tout état de cause, celui-ci a entraîné l'inhibition de l'hybridation de la sonde sauvage ce qui a conduit à un rendu faussement homozygote. Cette découverte nous a obligés à douter des résultats homozygotes pour H63D obtenus par notre technique. Afin de pouvoir revalider les sondes que nous utilisons, nous avons séquencé 70 patients homozygotes pour H63D. Aucun variant n'a été mis en évidence sur les 140 allèles testés.

Conclusion : La confirmation de nos résultats pour la série testée et 8 ans de recul d'activité de dépistage par cette méthode nous permettent de considérer ce polymorphisme comme extrêmement rare. Il ne nous fait pas remettre en cause la technique et les sondes employées et ne semble pas avoir d'impact diagnostique négatif.

**Mots-clefs :** Hémochromatose, p.His63Asp, Taqman®

## Génétique des populations et maladies complexes

C118/#518

### Variants rares dans le gène ESR1 du récepteur alpha aux oestrogènes associés à l'anorexie mentale

### Rare variants in ESR1 gene, encoding estrogen receptor alpha, associated with anorexia nervosa

Philip GORWOOD (1,2), Audrey VERSINI (1), Fabien BONNET (1), NICOLAS RAMOZ (1)

1. INSERM U894, Centre de psychiatrie et neurosciences, Paris, France  
2. Clinique des Maladies Mentales et de l'Encéphale CMME, Hôpital Sainte-Anne, Paris, France

**Auteur correspondant :** RAMOZ Nicolas (nicolas.ramoz@inserm.fr)

L'anorexie mentale (AN) est un trouble multifactoriel sévère du comportement alimentaire qui se manifeste par un refus de maintenir son poids corporel au-dessus d'un minimum normal, et/ou une peur intense de reprendre du poids. Sa prévalence vie entière est estimée à 0,5%. Le taux de mortalité chez les patients est de 10%, essentiellement du à la dénutrition. Mais par ailleurs, dans l'anorexie mentale ce taux de mortalité par suicide est le plus élevé de tous les troubles psychiatriques.

L'AN présente une très forte composante génétique avec une héritabilité estimée à 50-80%. Les récepteurs œstrogéniques sont impliqués dans la régulation de la prise alimentaire et les comportements alimentaires. Nous avons montré une association génétique entre des polymorphismes du gène ESR1 codant le récepteur alpha aux œstrogènes et la forme restrictive de l'anorexie mentale. Alors qu'une étude de 2002 avait identifié des variants du gène ESR2, codant le récepteur bêta aux œstrogènes, associés à l'AN et non ceux du gène ESR1. Dans ce travail, nous recherchons des mutations et de nouveaux polymorphismes (Single Nucleotide Variants SNVs) spécifiquement associés à l'AN dans les gènes ESR1 et ESR2. Pour cela, nous réalisons le séquençage à haut débit, dans les 2 sens avec une profondeur de lecture x100, des 12 exons caractérisés du gène ESR1 et des 11 exons du gène ESR2, chez 300 patients AN et 700 sujets contrôles. L'analyse des séquences est en cours et sera présentée au congrès. Nous pourrions ainsi comparer les variants de ESR2 avec ceux qui viennent d'être identifiés associés à l'AN dans le travail de Scott-Van Zeeland, en cours de publication dans *molecular psychiatry*.

**Mots-clefs :** anorexie mentale, récepteur œstrogènes, neuropsychiatrie moléculaire

## Génétique des populations et maladies complexes

C119/#526

### Le bilan de thrombose est-il nécessaire pour les drépanocytaires ?

Rim Belhaj-Nefissi (1), Najiba Fekih-Mrissa (1), Fedia Ouali (2), Amina Bibi (2), Taieb Massaoud (2), Nasreddine Grilli (1)

1. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Service d'Hématologie, Hôpital Militaire Principal d'Instruction de Tunis, Tunis, Tunisie.

2. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie.

**Auteur correspondant :** Belhaj Nefissi Rim (belhaj\_rim@yahoo.fr)

**Introduction :** La drépanocytose est associée à un état d'hypercoagulabilité qui se manifeste sur le plan clinique par un risque augmenté de thromboses artérielles et veineuses. Les mutations ; Leiden du Facteur V, C677T de la MTHFR et G20210A de la prothrombine sont les formes les plus fréquentes de susceptibilité génétique de la thrombose. Dans ce travail, nous étudions l'impact de l'association de ces différents marqueurs sur le processus thrombotique des drépanocytaires.

**Matériel et méthodes:** Notre étude a concerné 35 patients drépanocytaires homozygotes SS âgés de 4 à 23 ans. Le génotypage a été réalisé par la technique PCR- RFLP.

**Résultats :** Dans notre étude nous avons observé 5 patients hétérozygotes pour la mutation Facteur V Leiden, 6 patients hétérozygotes pour la mutation G20210A de la prothrombine et 24 patients hétérozygotes pour la mutation C677T de la MTHFR.

**Conclusion :** L'analyse des facteurs de risque de thrombose ne peut qu'être utile pour la prévention des troubles hémostatiques chez les drépanocytaires. L'intégration de données génétiques dans le diagnostic de la drépanocytose pourrait être à l'origine de nouvelles attitudes thérapeutiques.

**Mots-clefs :** Drépanocytose, thrombose, PCR-RFLP

## Génétique des populations et maladies complexes

C120/#587

### Etude du variant C677T du gène MTHFR dans la population marocaine atteinte de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Nadia Serbati (1), Wafaa Badre (2), Nezha Senhaji (3), Brehima Diakité (4), Sellama Nadiifi (5)

1. laboratoire de génétique et pathologies moléculaires, faculté de médecine et de pharmacie de casablanca - université hassan II - ain chock, casablanca, Maroc

2. Service d'hépatogastro-entérologie, CHU IBN ROCHD, Casablanca, Maroc

3. laboratoire de génétique et pathologies moléculaires, faculté de médecine et de pharmacie de casablanca - université hassan II - ain chock, casablanca, Maroc

4. Laboratoire de génétique et pathologies moléculaires, faculté de médecine et de pharmacie de casablanca - université hassan II - ain chock, casablanca, Maroc

5. Laboratoire de génétique et pathologies moléculaires, faculté de médecine et de pharmacie de casablanca - université hassan II - ain chock, casablanca, Maroc

**Auteur correspondant :** SERBATI NADIA (nadiaserbati@yahoo.fr)

**Introduction**

Récemment, on a pu mettre en évidence une association des polymorphismes génétiques liés au métabolisme de l'homocystéine et de folate avec les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). En effet, plusieurs études ont identifié des variants génétiques de la MTHFR (méthylène tétra-hydro-folate) comme loci de susceptibilité importants pour la maladie de Crohn (CD) et la colite ulcéreuse (CU). Le polymorphisme génétique C677T du gène MTHFR est responsable de l'expression d'une enzyme thermolabile ayant une activité réduite. Notre travail consiste à examiner si la variante C677T confère une susceptibilité génétique à l'une des MICI (maladie de Crohn ou colite ulcéreuse) et évaluer les corrélations génotype-phénotype dans la population marocaine.

**Matériel et Méthodes :**

La présente étude a inclus 96 patients atteints de maladies inflammatoires de l'intestin (68 patients atteints de MC et 28 avec UC) et des contrôles sains 182. Le polymorphisme C677T du gène MTHFR fut recherché par la méthode PCR -RFLP. L'analyse statistique a été réalisée par le logiciel MedCalc, le test du chi carré et le test de Fisher.

**RÉSULTATS:**

L'odds ratio pour le groupe de malades CD, UC et le groupe témoin étaient respectivement de : 1,55 (IC 95% : 0,53 à 4,53 , P = 0,52) ; 0,50 (IC 95% : 0,06 à 4,15 , P = 0,52) et de 0,50 (IC 95% : 0,06 -4,15 , p = 0,52) . Par conséquent, aucune association statistiquement significative avec la maladie n'a été observée entre la fréquence de la variante TT par rapport aux témoins sains. La stratification des patients atteints de MICI sur la base de CD ou UC a montré que les individus porteurs d'au moins un allèle T ne sont pas protégés contre la maladie de Crohn . En outre, les caractéristiques cliniques de la maladie n'ont montré aucune association significative.

**CONCLUSION :**

En conclusion, la présente étude indique que le risque génétique pour les MICI n'est pas modulé par le polymorphisme C677T du gène MTHFR dans la population marocaine.

**Mots-clefs :** Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, gène de la méthylène tétra hydro folate réductase MTHFR, polymorphisme C677T



## Génétique des populations et maladies complexes

C121/#603

### Distribution des polymorphismes I/D du gène ACE et C677T du gène MTHFR chez une population marocaine d'hypertendus

Sanaa Nassereddine (1), Farah Korchi (2), Yaya Kassogue (1), Hind Dehbi (1), Rachida Habbal (2), Sellama Nadifi (1)

1. Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire, CHU Ibnou Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc  
2. Service de Cardiologie, CHU Ibn Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

**Auteur correspondant :** nassereddine sanaa (nassereddinesanaa@yahoo.fr)

L'hypertension artérielle (HTA) est l'un des principaux déterminants des maladies cardiovasculaires; elle constitue un problème majeur de santé publique au Maroc car elle présente une prévalence de l'ordre de 33.6%.

Par la présente étude, nous avons exploré l'association du polymorphisme insertion / délétion (I / D) de l'enzyme de conversion de l'angiotensine(ACE), et le polymorphisme C677T du gène de la méthylentetrahydrofolate réductase (MTHFR) avec l'hypertension artérielle essentielle (HTA) dans une population marocaine d'hypertendus.

Il nous a été démontré que la fréquence génotypique DD du gène ACE (53%) est plus importante que la fréquence génotypique II (30%) avec une fréquence allélique pour l'allèle D de l'ordre de 68% par rapport à 76,6% chez la population générale.

Concernant C677T du gène MTHFR, la distribution DES génotypes est en équilibre avec la loi de Hardy-Weinberg avec une fréquence de l'homozygotie TT estimée à 17% par rapport à 6% chez la population générale.

Ce travail a montré que les polymorphismes génétiques C677T lié au gène MTHFR et l'I/D DU gène ACE sont associés avec le risque d'hypertension en particulier chez ceux qui ont un risque cardiovasculaire élevé.

**Mots-clefs :** I/D du gène ACE, C677T du gène MTHFR, hypertension

## Génétique des populations et maladies complexes

C122/#615

### Différences dans le profil d'expression de gènes entre deux groupes de patients trisomiques 21, l'un avec un quotient intellectuel fort, l'autre avec un quotient intellectuel faible.

Roman Bruno (1), Nathalie Dorison (2), Gérard Lefranc (3), Laurent Manchon (1), André Mégarbané (4), Clotilde Mircher (2), Marine Morent (1), Florian Noguier (1), Fabien Pierrat (1), David Piquemal (1), Aimé Ravel (2), Marie-Odile Réthoré (2), Samantha Stora (5), Bernadette Trentin (1)

1. Skuldtech, Skuldtech, Montpellier, France  
2. Consultation, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France  
3. Institut de Génétique Humaine, Université Montpellier 2 et CNRS UPR 1142, Montpellier, France  
4. Unité de Génétique Humaine et Laboratoire Associé INSERM UMR-S910, Hôpital Saint-Joseph, Beyrouth, Liban  
5. Laboratoire BioJeL, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France

**Auteur correspondant :** Stora Samantha (samantha.stora@institutejeune.org)

La trisomie 21 (T21), Syndrome de Down, est l'une des plus fréquentes causes de déficience intellectuelle. Celle-ci varie considérablement d'un patient T21 à un autre. Afin de déterminer la cause moléculaire de ces différences, une base de données de profils d'expression d'un grand nombre de gènes a été établie via une approche d'analyse sérielle, le Digital Gene Expression (DGE), correspondant à une méthode SAGE-like.

Cette analyse s'est faite pour 3 groupes d'échantillons: le premier constitué de 10 patients T21 avec un QI fort, le second de 10 patients T21 avec un QI faible, et le troisième de 10 contrôles. Plus de 90 millions de cibles ont été séquencées et, finalement, 80 gènes d'intérêt potentiel ont été sélectionnés avec une validation par PCR quantitative.

Nous avons montré que HLA DQA1 et HLA DRB1 sont sous exprimés chez les patients à faible QI, les valeurs trouvées dans le groupe témoin étant intermédiaires entre celles trouvées chez les patients T21 à QI forts et chez ceux à QI faibles. Ce résultat est d'autant plus intéressant que la région intergénique entre HLA DQA1 et HLA DRB1 contient un site de liaison pour le facteur de liaison à la séquence CCCTC, CTCF, dont le gène est surexprimé dans le groupe T21 à QI faible, et pour la cohésine (formée de plusieurs sous-unités), ces 2 facteurs étant essentiels à l'expression de HLA DQA1 et HLA DRB1, ainsi qu'à celle d'un certain nombre d'autres gènes.

Par ailleurs, le gène APP (Amyloid-beta Precursor Protein), localisé sur le chromosome 21 et impliqué dans l'apparition précoce de la maladie d'Alzheimer (AD) chez les patients T21 par comparaison avec les patients AD sans T21, est surexprimé dans le groupe T21 à QI faible.

Nos résultats pourraient mener à la découverte de gènes, ou de marqueurs génétiques, directement impliqués dans plusieurs phénotypes liés à la T21, et à l'identification de cibles potentielles pour des solutions thérapeutiques.

**Mots-clefs :** Trisomie 21, Transcriptome, QI fort, QI faible

## Génétique des populations et maladies complexes

C123/#624

### Estimation de la fonction de pénétrance dans les familles atteintes de neuropathie amyloïde héréditaire à transthyrétine par une approche non paramétrique.

Flora Alarcon (1), Urban Hellman (2), Hervé Perdry (3), Violaine Plante-Bordeneuve (4), Ole B. Suhr (5)

1. MAP5-UMR CNRS 8145, Université Paris-Descartes, Paris, France
2. Laboratoire MAPS- UMR-CNRS 8145, Université Paris Descartes, PARIS, France
3. UMR-S 669 et Inserm U 669, Université Paris-Sud, Villejuif, France
4. Neurologie- Centre de Référence Maladies Neuromusculaires, Henri CHU Henri Mondor, CRETEIL, France
5. Department of Public Health and Clinical Medicine, Umeå University, Umeå, Suède

**Auteur correspondant :** Plante-Bordeneuve Violaine  
(violaine.plante@hmn.aphp.fr)

Les neuropathies amyloïdes héréditaires à transthyrétine (NAH) sont des maladies génétiques à transmission autosomique dominante par anomalie du gène de la transthyrétine. Dans des précédents travaux, la fonction de pénétrance avait été estimée à l'aide d'une méthode paramétrique (la PEL) qui utilise une approche de survie basée sur le modèle de Weibull. Cependant, un écart à ces hypothèses peut entraîner un biais non négligeable lors de l'estimation. Nous proposons ici une méthode non paramétrique pour l'estimation de la fonction de pénétrance. Cette méthode corrige pour le biais de recensement des familles et permet la prise en compte de covariables telles le sexe, le sexe du parent transmetteur, le type de mutation, etc, par un modèle de Cox. Nous présentons ensuite l'application de notre nouvelle approche non paramétrique à 158 familles atteintes de NAH. Le plus souvent, il apparaît que la méthode paramétrique sur-estime la fonction de pénétrance. Cependant, on retrouve une différence dans l'estimation du risque selon le sexe du parent transmetteur, aussi bien avec la méthode paramétrique qu'avec la méthode non paramétrique. Cette nouvelle approche non paramétrique nous semble prometteuse. En effet, elle permet d'avoir des estimations plus précises et d'ajuster les estimations sur des covariables. Ce qui permettra une meilleure connaissance des facteurs impliqués dans la maladie, avec répercussion sur la prise en charge des familles.

**Mots-clefs :** Neuropathie amyloïde à transthyrétine, Génétique, Pénétrance

## Génétique des populations et maladies complexes

C124/#642

### Recherche de nouveaux variants génétiques responsables de troubles progressifs de la conduction cardiaque.

Estelle Baron (1), Stéphanie Bonnaud (1), Stéphanie Chatel (2), Xavier Daumy (1), Laëtitia Duboscq-Bidot (1), Xavier Estivill (3), Jean-Baptiste Gourraud (1), Florence Kyndt (1), Hervé Le Marec (2), Solena Le Scouarnec (1), Pierre Lindenbaum (1), Stephan Ossowski (4), Vincent Portero (1), Vincent Probst (2), Richard Redon (1), Jean-Jacques Schott (1), Raluca Teusan (1), Daniel Trujillano (3)

1. l'institut du thorax – Equipe génétique, Unité Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291, Nantes, France
2. l'institut du thorax, Unité Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291, Nantes, France
3. Genomics and Disease Group, Bioinformatics and Genomics Programme, Centre for Genomic Regulation, Barcelone, Espagne
4. Genomic and Epigenomic variation in Disease Group, Centre for Genomic Regulation, Barcelone, Espagne

**Auteur correspondant :** Daumy Xavier (xavier.daumy@inserm.fr)

Les blocs auriculo-ventriculaires dégénératifs (BAVD) sont des altérations progressives de la conduction auriculo-ventriculaire pouvant causer des syncopes, voire des événements de mort subite cardiaque. Des formes familiales de ces pathologies ont été rapportées et plusieurs gènes ont ainsi été associés aux formes isolées de BAVD : SCN5A, SCN1B et TRPM4.

Une enquête épidémiologique nous a permis de recruter 4 grandes familles atteintes de BAVD. Les exomes complets de 4 à 5 patients par famille ont été séquencés sur station Illumina HiSeq. Deux algorithmes (Samtools et GATK) ont été utilisés pour détecter les variations génétiques codantes puis plusieurs filtres ont ensuite été appliqués dans le but d'identifier les variants potentiellement associés à la pathologie.

En moyenne, 29369 variants prédits comme faux-sens, non-sens ou localisés dans des sites d'épissage ont été détectés par famille. Un premier filtre permet de ne conserver que les variants partagés par tous les individus, ou tous sauf un pour palier un possible faux négatif. Il reste en moyenne 3742 variants par famille après cette étape. Un deuxième filtre permet ensuite d'éliminer les variants communs (MAF>1%) répertoriés dans les bases de données dbSNP137 et 1000G. Ceci permet de réduire le nombre de variants à 815 en moyenne par famille. Nous nous sommes ensuite focalisés sur les variants détectés par les deux algorithmes Samtools et GATK avec des scores de qualité acceptables (315 en moyenne) dans l'optique de minimiser le nombre de variants faux-positifs tout en n'excluant qu'un nombre négligeable de faux-négatifs.

Par cette approche, nous avons identifié un variant d'intérêt dans une famille. Il s'agit de la substitution faux-sens p.E347K dans le gène LMNA codant pour les lamines A et C, protéines essentielles de la membrane nucléaire. Des études ont déjà montré l'implication de ce gène dans des troubles de conduction associés à une cardiomyopathie dilatée mais les patients de cette famille ne présentent que des troubles de conduction isolés.

Outre ces 4 familles, l'enquête épidémiologique a permis de recruter une cohorte de plus de 300 patients isolés. Nous avons entrepris le criblage de 163 gènes à implication cardiaque potentielle ou avérée sur 95 d'entre eux grâce à la technologie Haloplex. Cette dernière permet le séquençage de régions génomiques d'intérêt sur un nombre important de patients. Cette étude devrait nous permettre de tester la prévalence des mutations de ces gènes dans les troubles de la conduction cardiaque. Les résultats préliminaires semblent montrer un enrichissement de mutations dans un gène chez ces 95 patients par rapport à des contrôles correspondants. De plus, 12 variants, bien qu'ils soient encore à valider, semblent particulièrement intéressants. Il s'agit de 11 substitutions faux-sens, dont une dans le gène LMNA, une dans SCN5A et quatre dans TRPM4, et d'une substitution non-sens.

**Mots-clefs :** blocs auriculo-ventriculaires dégénératifs, NGS, LMNA

## Génétique des populations et maladies complexes

C125/#643

### Etude du gène GDF5 dans la dysplasie acétabulaire chez l'adulte

Karen ROUAULT (1), Dewi GUELLEC (2), Virginie SCOTET (3), Francis GUILLEMIN (4), Claude FEREC (1), Alain SARAUX (2)  
1. Inserm UMR1078 « Génétique, Génomique fonctionnelle et Biotechnologies », Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU Hôpital Morvan, BREST, France  
2. Service de rhumatologie, CHRU Hôpital La Cavale Blanche, BREST, France  
3. Inserm UMR1078 « Génétique, Génomique fonctionnelle et Biotechnologies », CHRU Hôpital Morvan, BREST, France  
4. Service d'épidémiologie et d'évaluation cliniques, CHU Nancy, VANDEUVRE-LES-NANCY, France

**Auteur correspondant :** ROUAULT Karen (karen.rouault@univ-brest.fr)

**Introduction :** La dysplasie de hanche, qui est une des pathologies du squelette les plus fréquentes dans les populations d'origine caucasienne, résulte d'une anomalie de positionnement de la tête fémorale dans la cavité acétabulaire. Cette anomalie peut conduire à différents phénotypes allant des formes sévères de luxation, généralement dépistées chez les nouveau-nés, aux formes modérées de dysplasie acétabulaire qui peuvent être diagnostiquées à l'âge adulte. Les études génétiques entreprises sur la dysplasie de hanche ont montré une association entre la pathologie et des polymorphismes situés dans la région 5'UTR du gène GDF5 (Growth Differentiation Factor 5). Ce gène, impliqué dans la morphogénèse du cartilage articulaire, a également été associé à la coxarthrose dans différentes populations. L'objectif de notre étude est donc de vérifier si l'association entre ces polymorphismes et la dysplasie acétabulaire subsiste dans un contexte de coxarthrose.

**Population et Méthodes :** La population d'étude est issue de la cohorte KHOALA (Knee or Hip Osteoarthritis Long Term Assessment) qui regroupe 878 personnes présentant une arthrose symptomatique de hanche et/ou de genou, définie par les critères cliniques ACR (American College of Rheumatology) et radiographiques de Kellgren et Lawrence (stage  $\geq 2$ ). Un total de 131 individus ont bénéficié à la fois d'un prélèvement sanguin et d'une évaluation morphologique des hanches. La dysplasie acétabulaire est définie par la présence d'au moins une des anomalies suivantes : angle VCE  $\leq 20^\circ$ , angle HTE  $> 12^\circ$  et/ou profondeur acétabulaire (PA)  $< 9$  mm. Les marqueurs rs143383 et rs143384 ont été génotypés par la technologie Taqman® et les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel EpiInfo. **Résultats :** Sur les 131 individus, 60 présentent une dysplasie acétabulaire (45.8 %). La prévalence de la pathologie varie toutefois en fonction du critère morphologique retenu (VCE : 17.6 %, HTE : 29.8 % et PA : 25.2 %). L'étude d'association cas-témoins a révélé une association significative entre le marqueur rs143383 et la dysplasie sous un modèle dominant (OR = 4.57, IC à 95 % : [0.93-30.53],  $p = 0.035$ ), uniquement lorsque la dysplasie est définie par la PA. Pour le marqueur rs143383, une différence significative de PA bilatérale en fonction du génotype a également été retrouvée chez les cas (ANOVA :  $p = 0.004$  à droite et  $p = 0.001$  à gauche).

**Conclusion :** Cette étude a montré une association entre le marqueur rs143383 et la dysplasie acétabulaire définie par une insuffisance de profondeur acétabulaire, chez des individus atteints de coxarthrose. La corrélation entre ce paramètre morphologique et les génotypes du variant rs143383 nécessite des analyses complémentaires afin de déterminer si le gène GDF5 est impliqué dans la morphogénèse de l'acétabulum et ainsi dans la pathogénie de la dysplasie acétabulaire chez l'adulte.

**Mots-clés :** Dysplasie acétabulaire chez l'adulte dans un contexte de coxarthrose, Etude d'association cas-témoins, Gène GDF5

## Génétique des populations et maladies complexes

C126/#701

### Diagnostic moléculaire du gène PTPN11 chez une population marocaine atteinte de syndrome de Noonan : A propos de 16 cas

ihssane el bouchikhi (1), imane samri (1), Mohammed Iraqui Houssaini (2), laïla bouguenouch (1), said thranint (1), hanane sayel (1), samir atmani (3), mustapha hida (3), karim ouldim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc  
2. Laboratoire de Biotechnologie Microbienne, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculté des Sciences et Techniques, Fès, Maroc  
3. Service de pédiatrie, hôpital Mère-Enfant, CHU Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** el bouchikhi ihssane (ihssane\_11@yahoo.fr)

**Introduction :** Le syndrome de NOONAN compte parmi les maladies autosomiques dominantes les plus communes avec une prévalence de 1/1 000 à 1/2 500 naissances. Il est caractérisé par un retard statural, une dysmorphie faciale particulière et des cardiopathies congénitales. Chez environ 50% des malades, ce syndrome est dû à des mutations du gène PTPN11, entraînant une altération de la voie de signalisation RAS-MAP Kinase.

**Objectifs :** Mise au point d'un protocole expérimental permettant la détection des mutations de PTPN11 et exploration de ce gène chez les patients NOONAN. Ceci permettra pour la première fois de compléter le diagnostic du syndrome de NOONAN qui se limitait au Maroc jusque là à l'observation clinique. Il permettra également d'identifier le spectre des mutations présentes dans la population Marocaine atteinte du syndrome de NOONAN.

**Méthodologie :** L'étude a porté sur les 16 patients NOONAN recrutés au CHU HASSAN II de Fès durant les 4 dernières années. Le protocole PCR-Séquençage, des principaux exons touchés par les mutations, a été mis au point, et l'ADN extrait des différents patients a servi pour réaliser la PCR puis le séquençage des différents exons. Les séquences obtenues ont subi une analyse bioinformatique.

**Résultats :** Sur les 16 patients étudiés, trois mutations décrites (Asp61Gly, Tyr63Cys et Asn308Ser) ont été confirmées chez quatre patients (25%), dont une dans l'exon 8 et deux dans l'exon 3. Ces quatre patients partagent les traits faciaux caractéristiques du syndrome de NOONAN. Trois parmi eux souffrent d'une sténose pulmonaire. Une autre substitution (g.63899C>T) dans l'intron 7 a été également observée chez trois autres patients. Cette substitution a été signalée dans la littérature comme étant un polymorphisme.

**Conclusion :** L'étude présente a permis de confirmer le diagnostic du Syndrome de NOONAN chez nos patients concernés, et de leur accorder une prise en charge multidisciplinaire adaptée et un conseil génétique adéquat. Cette étude nous a permis également d'avoir une idée sur le profil génétique de la population marocaine atteinte du syndrome de NOONAN.

**Mots-clés :** noonan, PTPN11, cardiopathies congénitales

## Génétique des populations et maladies complexes

C127/#709

### Etude de TREX1 et des gènes codant d'autres nucléases au cours du lupus systémique avec manifestations neurologiques.

Gaëlle GUETTROT-IMBERT (1), Nathalie COSTEDOAT-CHALUMEAU (2), Caroline JANEL (3), Pierre BLANC (3), Sarah LANGLAIS (3), Amélie DION (3), Olivier AUMAÏTRE (1), Marc ANDRE (1), Isabelle CREVEAUX (3) et le groupe PLUS

1. Service de Médecine Interne, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. Service de Médecine Interne, Hôpital Cochin- Université Paris V, PARIS, France
3. Service de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire, UF de Biologie Moléculaire, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** GUETTROT-IMBERT Gaëlle (gguettrot-imb@chu-clermontferrand.fr)

Le lupus systémique (LS) est une maladie auto-immune non spécifique d'organe d'origine multifactorielle. Des formes frontalières ont été décrites avec une maladie à transmission autosomique récessive de l'enfant, le syndrome d'Aicardi-Goutières (SAG), hétérogène sur le plan génétique. 6 gènes codant différentes nucléases (TREX1, SAMHD1, RNASEH2 et ADAR1) sont impliqués dans le SAG. Les mutations sont associées à une augmentation des taux d'interféron alpha et de la production d'anticorps anti-ADN qui sont deux caractéristiques du LS.

Nous avons initié le criblage de ces gènes dans une sous-population de patients lupiques avec manifestations neuro-psychiatriques (MNP), phénotype le plus proche du SAG. Cette étude multicentrique a inclus 40 patients dont 23 issus de l'étude PLUS et 17 du Centre de référence national pour le LS et du service de Médecine Interne du CHU de Clermont Ferrand. Tous présentaient des MNP à type de psychose ou de convulsions. Certaines manifestations du SAG dont les méningites lymphocytaires et les engelures étaient plus fréquemment observées chez nos patients avec MNP (20% et 20%) que dans les cohortes de lupus « tout venant » de la littérature (0.5% et < 5%).

Le séquençage de l'exon codant de TREX1 et des exons les plus fréquemment mutés de RNASEH2B et SAMHD1 n'a pas mis en évidence de mutations faux-sens ou non-sens, mais une modification de fréquence de deux SNPs par rapport à une population contrôle caucasienne : l'un situé dans l'exon codant de TREX1-rs11797 avec une augmentation de la fréquence du variant T de 43.7% vs 32.3% et le second dans l'intron 4 de RNASEH2B-rs1555625 avec une fréquence du variant T de 17% vs 10%. S'agissant de variant synonyme, une RT-PCR qualitative de l'exon codant TREX1 chez 2 patients avec un génotype CC et un patient CT n'a pas mis en évidence d'anomalie qualitative des transcrits. Le séquençage des produits de RT-PCR a confirmé la transcription des 2 allèles. L'analyse quantitative de ces transcrits est en cours.

Ces résultats suggèrent une augmentation de fréquence de certains variants synonymes dans TREX1 et RNASEH2 au cours du LS avec MNP. Le SNP TREX1-rs11797 fait partie d'un haplotype considéré comme facteur de risque de survenue de MNP au cours du LS, mais il n'existe pas de données permettant de classer ce polymorphisme comme ayant une signification fonctionnelle ou comme simple marqueur. Les variants impliqués dans les pathologies multifactorielles sont fréquemment situés dans les régions non codantes et responsables d'une modification d'expression. Ainsi de nombreuses associations statistiques entre SNP et LS sont décrites, avec parfois modification de la transcription. Le séquençage exhaustif de SAMHD1 et de RNASEH2 A, B et C doit donc être poursuivi et complété par l'étude de la quantification des différents transcrits de TREX1-rs11797 et par l'étude fonctionnelle de RNASEH2B-rs1555625. Une augmentation de la taille de notre cohorte est également nécessaire.

**Mots-clés :** Lupus à manifestations neurologiques, Gènes TREX1 et SAMHD1, syndrome d'Aicardi-Goutières

## Génétique des populations et maladies complexes

C128/#719

### Première description de ( $\delta\beta$ )0 thalassémie délétionnelle chez des patients Tunisiens

Latifa Jouini (1), Nawel Laouini (1), Chaima Sahli (1), Sondess Hadj Fredj (1), Hajer Siala (1), Amina Bibi (1), Taieb Messaoud (1)  
1. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital d'enfants Bechir Hamza-Tunis, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Jouini Latifa (latifa.b.jouini@gmail.com)

**Introduction :** La Persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale (PHHF) et la  $\delta\beta$ -thalassémie sont des hémoglobinopathies caractérisées par une augmentation du taux d'hémoglobine fœtale (HbF) à l'âge adulte. Un nombre considérable de délétions, de taille et de position variables, des gènes du complexe  $\beta$ -globine sont associées à ces anomalies.

Dans cette étude nous nous sommes proposés d'étudier six types de délétions chez des familles Tunisiennes : Les PHHF-1, PHHF-2, PHHF-3 et PHHF-4, ainsi que deux ( $\delta\beta$ )0 thalassémies de type Spanish et Sicilian.

**Matériel et Méthodes :** Notre étude a porté sur 22 individus appartenant à 7 familles ayant un taux élevé d'HbF. Après obtention de leur consentement, l'ADN de ces patients a été extrait par la méthode au phénol-chloroforme. Une Gap-PCR a été utilisée pour identifier chacune des délétions.

**Résultats et Discussion :** Les résultats ont révélé la présence de deux larges délétions du complexe  $\beta$ -globine chez deux familles. Famille 1 : La Sicilian ( $\delta\beta$ )0 thalassémie qui est une délétion de 13.4 kb, a été retrouvée chez le père et le cas index à l'état hétérozygote. Famille 2 : La Spanish ( $\delta\beta$ )0 thalassémie qui est une délétion de 114 kb, a été retrouvée chez la mère et le cas index à l'état hétérozygote.

Des études précédentes ont démontré que la présence de ces mutations est un des facteurs les plus impliqués dans l'augmentation du taux d'HbF en Italie et en Espagne ainsi que dans d'autres pays du bassin Méditerranéen. La présence de ces deux mutations dans notre population confirme les données relatives aux origines de la population tunisienne et renforce les hypothèses sur l'influence des échanges génétiques résultant des flux migratoires en particulier pendant les guerres et la colonisation.

**Conclusion :** Cette première étude des délétions associées à la PHHF et à la  $\delta\beta$ -thalassémie met en évidence l'hétérogénéité génétique de la population tunisienne et permet de mettre à jour le spectre des mutations liées aux gènes  $\beta$ -globine.

**Mots clés :** délétions; Spanish  $\delta\beta$ -thalassémie; Sicilian  $\delta\beta$ -thalassémie.

**Mots-cléfs :** délétions, Spanish  $\delta\beta$ -thalassémie, Sicilian  $\delta\beta$ -thalassémie.



## Génétique des populations et maladies complexes

C129/#728

### Mucopolysaccharidose type I: intérêt du diagnostic et d'une enzymothérapie substitutive précoce (à propos d'un cas)

laila bouguenouch (1), imane samri (1), khadija belhassan (1), karimouldim (1)  
1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** bouguenouch laila (lbouguenouch@yahoo.com)

La mucopolysaccharidose de type I (ou maladie de Hurler) et ses formes modérées (maladies de Scheie et de Hurler-Scheie) sont des maladies de surcharge lysosomale à transmission autosomique récessive. Elles sont reliées au déficit d'une enzyme, l'alpha-L-iduronidase, responsable de l'accumulation dans les lysosomes des différents tissus de l'organisme de deux mucopolysaccharides, le dermatane-sulfate et l'héparane-sulfate, entraînant des manifestations cliniques multi-systémiques.

Nous rapportons le cas d'un nourrisson âgé de 18 mois issu d'un mariage consanguin présentant un retard psychomoteur, une macrocéphalie, des traits grossiers, un pectus excavatum marqué, une hernie ombilicale et une hépatomégalie.

Le diagnostic d'une mucopolysaccharidose a été évoqué devant une élévation des glycosaminoglycanes urinaires avec excrétion importante d'héparane sulfate et de dermatane sulfate et effondrement de l'activité  $\alpha$ -L-iduronidase. La biologie moléculaire a montré que cet enfant était homozygote.

Le traitement par Laronidase a permis une nette amélioration clinique et biologique.

Nous insistons à travers cette observation sur le rôle du diagnostic précoce de la MPS I. L'objectif étant de débiter le traitement substitutif avant l'installation des signes irréversibles de la maladie.

**Mots-clefs :** maladie métabolique, mucopolysaccharidose, enzymothérapie

## Génétique des populations et maladies complexes

C130/#730

### Association entre fièvre méditerranéenne familiale et maladie de Behçet

laila bouguenouch (1), imane samri (1), khadija belhassan (1), hasna hamdaoui (2), karimouldim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc  
2. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** bouguenouch laila (lbouguenouch@yahoo.com)

La fièvre méditerranéenne familiale et la maladie de Behçet sont deux maladies inflammatoires chroniques observées autour du bassin méditerranéen. Elles ont une unique prévalence géographique et partagent un nombre commun de symptôme ainsi que l'activation anormale des neutrophiles. La colchicine présente un traitement commun pour les deux maladies.

Dans l'ensemble, il est plausible que les anomalies génétiques et moléculaires de la fièvre méditerranéenne familiale sont également impliqués dans l'hyper fonctionnement des neutrophiles et d'autres anomalies immunologiques de la maladie de Behçet.

Des études ont montré que les mutations M694V, V726A et E184Q du gène MEFV étaient présentes chez les patients atteints de maladie de Behçet d'une façon plus significative que chez la population témoin.

Certains ont conclu que la présence des mutations du gène MEFV, en particulier M694V, était un marqueur de susceptibilité des manifestations vasculaires de la maladie de Behçet.

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée chez 50 patients atteints de la maladie de Behçet par rapport à une population témoin. L'étude moléculaire se fait par PCR séquençage.

L'objectif de notre travail est de déterminer la présence des mutations du gène MEFV chez des patients marocains atteints de la maladie de Behçet.

**Mots-clefs :** maladie de Behçet, la fièvre méditerranéenne familiale, gène MEFV

## Génétique des populations et maladies complexes

C131/#742

### Cohorte franco-suisse pour l'étude pré-clinique de la polyarthrite rhumatoïde

Anne Debost-Légrand (1), Isabelle Creveaux (1), Jean-Jacques Dubost (2), Damien Richard (1), Valérie Chaudru (3), Martin Soubrier (2), Farès Moustapha (1), Brigitte Vennat (4), Sylvain Mathieu (2), Thomas Bardin (5), Frederico Pratesi (6), Marie-Hélène Papon (7), Athan Baillet (8), Axel Finckh (9)

1. GenHotel-Auvergne, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
2. Service de Rhumatologie, CHU, Clermont-Ferrand, France
3. GenHotel-Evry, Université d'Evry, Evry, France
4. Faculté de Pharmacie, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
5. Service de Rhumatologie, CHU Lariboisière, Paris, France
6. Service d'Immunologie, CHU, Pise, Italie
7. Service de Biochimie, CHU, Grenoble, France
8. Service de Rhumatologie, CHU, Grenoble, France
9. Service de Rhumatologie, CHU, Genève, Suisse

**Auteur correspondant :** Cornélis Francois (fcornelis@chu-clermontferrand.fr)

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est la pathologie auto-immune la plus fréquente avec une incidence annuelle de l'ordre de 10/100.000 en population générale. Cette incidence est augmentée dans les familles comportant au moins une personne atteinte de PR, à 100/100.000 en moyenne chez les apparentés au 1er degré. Une étude prospective d'apparentés de patients PR permettrait d'évaluer l'incidence en fonction des facteurs de risque génétiques et d'environnement connus, notamment du tabac, afin d'identifier des sous-groupes à fort risque de développer une PR dans l'environnement actuel.

L'objectif de ce travail est de constituer une cohorte franco-suisse d'apparentés de patients PR pour identifier ces sous-groupes et étudier a posteriori les phases pré-cliniques de la PR.

**Patients et méthodes**

Un recrutement national a été lancé en Suisse et en France en 2010 via les sociétés savantes, les associations de patients ainsi que les médias et va se poursuivre jusqu'en 2016. Les volontaires sont évalués à l'inclusion pour l'absence de synovite clinique (questionnaire et/ou examen clinique). Ils sont suivis prospectivement avec au moins un contact annuel. Chaque participant fournit annuellement un échantillon de sang (pour extraction d'ADN, stockage de sérum et de cellules) et une mèche de cheveux (en France seulement). Le diagnostic de PR chez un membre de la famille est confirmé par un rhumatologue. Le dosage des anticorps anti-peptides citrullinés (AAPC) est précisé. En cas de survenue de douleurs articulaires, une évaluation diagnostique est faite par un rhumatologue.

**Résultats**

Voici la description de la cohorte actuelle de 1067 apparentés de PR :

Suisse France

Nombre de

volontaires 763 304

Age 40.8(15) 48.7(14.6)

Sexe (% femme) 73 77.0

BMI 23.7 23.9

Ethnie (% caucasiens)

93 99

Consommation de tabac :

Fumeur(%) 28 14

Ancien fumeur(%)46 34

Apparenté 1er degré(%)

100 77.3

**Conclusion**

Le développement de cette cohorte va permettre de préciser l'incidence de la PR en fonction des facteurs de risques connus et d'en étudier la phase pré-clinique. Le suivi prospectif permettra d'étudier également d'autres pathologies auto-immunes. Une stratégie de prise en charge précoce, voire de prévention, pourra être envisagée. **Mots-clefs :** maladie multi-factorielle, maladies auto-immunes, polyarthrite rhumatoïde

## Génétique des populations et maladies complexes

C132/#755

### Incidence accrue de sclérose en plaques dans les familles atteintes de polyarthrite rhumatoïde

Anne Debost-Légrand (1), Jean-Jacques Dubost (2), Camille Auroux (1), Lucie Baldet (1), Laetitia Michou (3), Isabelle Creveaux (1), François Cornélis (1)

1. GenHotel-Auvergne, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
2. Service de Rhumatologie, CHU, Clermont-Ferrand, France
3. Service de Rhumatologie, CHU, Québec, Canada

**Auteur correspondant :** cornélis francois (fcornelis@chu-clermontferrand.fr)

**Introduction**

Une cohorte de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) a été constituée en France à partir de 1995 permettant un suivi des malades et de leurs apparentés. Une première étude de suivi en 2001 a confirmé une incidence accrue de polyarthrite rhumatoïde à 100/100 000/an et d'autres maladies auto-immunes dans ces familles. Comparée à la population générale, une prévalence 3 fois supérieure de sclérose en plaques (SEP) avait été observée (0,08%), donnée peu documentée dans la littérature. En 2010, une extension de cette étude visant 100 000 apparentés de polyarthritiques a été lancée, notamment pour préciser les facteurs influençant l'incidence de la PR et des autres maladies auto-immunes.

**Objectifs :**

L'objectif de cette étude était d'évaluer et de comparer l'incidence des maladies auto-immunes au sein d'une même cohorte entre deux périodes de suivi soit 1996-2001 et 2002-2013.

**Méthodes :**

Nous avons procédé à des interrogatoires téléphoniques afin d'obtenir des informations sur l'existence d'éventuelles maladies auto-immunes chez les patients de cette cohorte et leurs apparentés du 1er et second degré. Un courrier a été secondairement envoyé au médecin en charge afin de confirmer les diagnostics.

**Résultats :**

66 familles ont accepté de participer à l'étude. Chez les apparentés, 13 nouveaux cas de maladies auto-immunes (dont 7 nouvelles polyarthrites rhumatoïdes et 1 sclérose en plaque) ont été recensés, sous réserve de la confirmation des diagnostics. Les incidences obtenues pour la deuxième période de suivi de l'étude sont de 107 pour 100 000 par an polyarthrites rhumatoïdes et de 15 pour 100 000 par an scléroses en plaques (premier et seconds degrés confondus).

**Conclusion :** L'augmentation d'incidence de polyarthrite rhumatoïde dans ces familles est confirmée. Comparant à la population générale, nous avons observé une incidence accrue de la SEP chez les apparentés de polyarthritiques. Cette observation suggère l'existence entre PR et SEP de facteurs communs de susceptibilité, génétiques et/ou d'environnement.

**Mots-clefs :** maladies auto-immunes, sclérose en plaques, polyarthrite rhumatoïde

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D001/#11

### Nouvelle mutation dans le gène B3GALTL chez 4 patients Tunisiens typiquement atteints du Syndrome de Peters Plus et absence de mutation chez une patiente qui associe au syndrome une ambiguïté sexuelle

Olfa SIALA (1), NEILA Belguith (2), aff ben mahmoud (1), faiza fakhfakh (3)

1. LGMH, Faculté de Médecine de Sfax, SFAX, Tunisie
2. Service de Génétique Médicale, EPS Hédi Chaker, SFAX, Tunisie
3. LGMH, Faculté de Médecine de Sfax, sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** SIALA olfa (olfa\_siala@yahoo.fr)

Le syndrome de Peters Plus (PPS) est une maladie autosomique récessive rare caractérisée par une atteinte oculaire manifestée par une opacité de la cornée avec une atteinte de l'iris et un accollement de tissu en avant du globe oculaire; ainsi qu'un dysmorphisme facial et une petite taille des membres diagnostiquée en échographie prénatale. Le seul gène candidat découvert en 2006 est le gène B3GALTL avec seulement 7 mutations décrites, entraînant une inactivation de la B1, 3 -glycosyltransférase impliquée dans la synthèse d'un rare disaccharide majoritairement présent dans de nombreuses protéines biologiquement importantes. Dans notre étude, nous disposons de 5 patients Tunisiens atteints de PPS dont 4 montrent un PPS typique et une patiente associée au PPS une dilatation pyélocalicielle gauche et une ambiguïté sexuelle manifestée par une hyperpigmentation des grandes lèvres et un pseudo aspect du scrotum. Le séquençage des 13 exons codants du gène B3GALTL a révélé la présence d'une nouvelle c.597-2 A>G mutation d'épissage au niveau du site accepteur d'épissage de l'exon 8 chez 4 patients Tunisiens non apparentés atteints de PPS, suggérant un effet fondateur de cette mutation. L'étude fonctionnelle par RT-PCR a montré que cette mutation provoque un saut de l'exon 8 et la dégradation de l'ARNm par le système NMD. Cependant, aucune mutation dans le gène B3GALTL n'a été identifiée chez la patiente qui montre de nouvelles associations au PPS. L'ensemble de ces résultats montre l'implication du gène B3GALTL dans les cas de PPS typiques permettant un diagnostic ainsi qu'un conseil génétique pour les familles. D'autre part, l'absence de mutations chez la patiente associant une ambiguïté sexuelle et une malformation rénale suggère l'implication d'autres gènes dans la pathologie du PPS.

**Mots-clefs :** Syndrome de Peters Plus, B3GALTL mutations, Ambiguïté sexuelle

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D002/#15

### Glycogen storage diseases: a review of eighteen years experience of laboratory investigations

Lyèce Yargui, Meriem Djeddou, Nadia Gagi, Mohamed Ilies Rahiel, Arezki Berhoune

Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

**Auteur correspondant :** YARGUI LYECE (lyecebiochem@yahoo.fr)

The glycogen storage diseases (GSD) or glycogenoses are a heterogeneous group of inborn errors of carbohydrate metabolism that lead to abnormal concentrations or structure of glycogen. Several well defined defects in one of the enzymes involved in the synthesis or degradation of glycogen have been described. There are over 15 types and they are classified based on the enzyme deficiency and the affected tissue (liver, muscle or both).

In this study, we wish to report the biochemical investigations adopted in main infantile GSD diagnosed in our laboratory.

Four steps diagnostic procedure have been assumed, taking into account several frequent clinical observations leading to further targeted biochemical parameters:

1- Assessment of the metabolic disorders with standard tests (fast blood glucose, uric acid, triglycerides, total cholesterol, ASAT, ALAT, CK, lactic acid).

2- Quantitative determination of glycogen in leucocytes (or erythrocytes) after extraction, precipitation and treatment with anthrone reagent.

3- Oral galactose test with blood lactate and glucose estimations, in combination with a glucagon tolerance test to screen the main types of liver glycogenosis.

4- Lysosomal acid a-glycosidase activity when GSD type II (Pompe disease) is suspected.

Since 1995 and on the basis of this screening procedure and clinical features, 14 cases of GSD have been categorized :

- 6 Forbes's disease (GSD III, debranching-enzyme deficiency)
- 3 von Gierke's disease (GSD I, glucose-6-phosphatase deficiency)
- 2 Pompe's disease (GSD II, maltase acid deficiency)
- 1 Andersen's disease (GSD IV, branching-enzyme deficiency)
- 1 Hers's disease (GSD VI, hepatic phosphorylase deficiency)
- 1 GSD XI (phosphorylase kinase deficiency)

Due to lack of facilities for enzymatic or genetic studies in leucocytes or tissues, it is rather difficult to classify with precision all types of GSD. Except for Pompe disease, this approach can only yield a tentative diagnostic which needs confirmation.

**Mots-clefs :** Glycogenoses, inborn errors of carbohydrate metabolism, laboratory investigations

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D003/#16

### Neonatal cholestasis: biochemical strategy and inborn errors of metabolism diagnosed

Lyèce Yargui, Sadi Mahammed Zahra, Nadia Gagi, Meriem Djeddou, Arezki Berhoune  
Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

**Auteur correspondant :** Yargui LYECE (lyecebiochem@yahoo.fr)

**Objective:** We develop the practical diagnostic approach to Neonatal cholestasis (NC) in our laboratory. Differences in biochemical indices between varieties of etiologic affections are explored. In addition, we report a data of four years investigations.

**Subjects and methods:** Four hundred sixty patients (282 males/178 females; from 3 weeks to 8 months of age) who were referred for investigation of conjugated hyperbilirubinemia from January 2009 to June 2013 were eligible for this study.

The liver function parameters analyzed were: total and direct bilirubin, aspartate and alanine aminotransferases (ASAT, ALAT), alkaline phosphatase (PAL), gamma-glutamyl-l-transpeptidase (GGT) and  $\alpha$ -foeto-protein (AFP). Hormonal evaluation included determination of TSH, FT4, cortisol, ACTH. The metabolic selective tests provided were serum tyrosine and  $\alpha$ 1-antitrypsine, measure of glycogen in leucocytes, urinary succinylacetone, urine reducing substances and thin layer chromatography of sugars.

**Results:** on the basis of our screening procedure and the clinical features, following cases have been categorized:

- 53 hepatorenal tyrosinemia (27 children died within a few weeks of diagnosis before therapy was initiated. 26 children were treated with NTBC).

- 5 congenital galactosemia (with a favourable outcome after diet restriction).

- 4 congenital hypothyreosis (with a favourable outcome after levothyrox therapy).

- 2 Progressive familial intrahepatic cholestasis (type 2 and type 3 : diagnosis established without genetic study).

**Conclusion:** Cholestasis in infants constitutes one of the most important diagnostic challenges of the biochemist and pediatric hepatology. In our population, etiologic evaluation shows that hepatorenal tyrosinemia accounts for 12% of inborn errors of metabolism diagnosed. To this preliminary study, we may add limitations that concern the deepening of investigation, which is indispensable for the diagnosis of mitochondrial disorders and peroxisomal metabolism disturbances.

**Mots-clefs :** Neonatal cholestasis, inborn errors of metabolism, Screening

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D004/#17

### Une nouvelle forme de leucoencephalopathie autosomique récessive due à des mutations du gène CLCN2

Christel Depienne (1), Bugiani Marianna (2), Dupuits Céline (3), Galanaud Damien (4), Tollard Eleonore (5), Touitou Valérie (6), Brice Alexis (1), Abbink Truus E.M. (2), Wolf Nicole I. (2), Sedel Frédéric (3), van der Knaap Marjo S. (2)  
1. INSERM UMR 975 (CR-ICM), Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
2. Department of Child Neurology, VU University Medical Center, Amsterdam, Pays-bas  
3. UF de neurométabolique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
4. Service de Neuroradiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
5. Service de Radiologie, CHU de Rouen, Rouen, France  
6. Service d'Ophthalmologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Depienne Christel (christel.depienne@upmc.fr)

Les leucoencéphalopathies héréditaires, ou leucodystrophies, constituent un groupe de maladies cliniquement et étiologiquement hétérogènes dont le début est le plus souvent dans l'enfance bien que des cas d'âge de début adulte existent également. Dans cette étude, nous avons séquencé l'exome de patients adultes avec une nouvelle forme de leucoencéphalopathie caractérisée par des anomalies spécifiques à l'IRM, en posant l'hypothèse d'une maladie autosomique récessive. Nous avons identifié des mutations du gène CLCN2, codant pour le canal chlore ClC-2, à l'état homozygote, chez trois patients. Le crible de CLCN2 chez des patients présentant des anomalies de signaux à l'IRM similaires mais dont les symptômes avaient débuté dans l'enfance a conduit à l'identification de trois autres patients avec des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites du gène. Les patients mutés présentent un âge de début mais également des signes cliniques très variables (ataxie cérébelleuse, spasticité, choriorétinopathie, surdité, maux de tête et/ou difficultés d'apprentissage). Les anomalies observées à l'IRM suggèrent l'existence de vacuoles de myéline. L'analyse fonctionnelle des mutations a montré que celles-ci conduisaient à une perte de fonction du canal chlore ClC-2, soit par dégradation de l'ARN muté via le système NMD, soit par rétention des protéines mutées dans le réticulum endoplasmique. L'analyse de la localisation de la protéine ClC-2 dans des cerveaux humains a par ailleurs montré que celui-ci était présent dans tous les composants du syncytium panglial, un vaste réseau astrocytaire maintenant les conditions ioniques requises pour l'activité électrique des neurones. La fonction de ClC-2 et sa contribution en pathologie humaine ont fait l'objet d'un débat ces dernières années : une étude, depuis rétractée, a suggéré que les variants hétérozygotes de CLCN2 jouaient un rôle dans les épilepsies généralisées idiopathiques, alors que les souris déficientes en clcn2 présentent une leucoencéphalopathie lentement progressive sans épilepsie, suggérant plutôt un rôle dans le maintien de l'équilibre ionique. Aucun des patients mutés ou de leurs apparentés ne présentaient d'épilepsie. Ces observations montrent que, chez l'homme, comme chez la souris, les mutations du gène CLCN2, transmises sur un mode autosomique récessif, sont responsables d'une leucoencéphalopathie caractérisée par un œdème de la myéline et que le canal ClC-2 joue un rôle crucial dans l'homéostasie ionique et aqueuse du cerveau.

**Mots-clefs :** exome sequencing, Leucoencephalopathie, CLCN2



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D005/#29

### Finger creases lend a hand in Kabuki syndrome.

#### Les plis de flexion donnent un « coup de main » au diagnostic de syndrome Kabuki.

carole corsini (1), caroline michot (2), damien sanlaville (3), clarisse baumann (4), annick toutain (5), nicole philip (6), tiffany busa (6), muriel holder (7), laurence fairve (8), sylvie odent (9), Marie-Ange delrue (10), marianne till (3), Marie-Line Jacquemont (11), Marie-Pierre Cordier (3), alice Goldenberg (12), elodie Sanchez (13), eudeline alix (3), sylvain poisson (2), Honorine Kayirangwa (2), didier Lacombe (10), brigitte Gilbert-Dussardier (14), anna Pelet (2), joelle Roume (15), aurelia Jacqueline (16), bertrand Isidor (17), fabienne Giuliano (18), Lydie Burglen (19), melanie fradin (20), elise Schaefer (21), yves Alembick (21), Bérénice Doray (21), anne Moncla (6), delphine Héron (16), Marjolaine Willems (22), lucile Pinson (22), Kim Hanh Le Quan Sang (2), valérie Cormier-Daire (2), martine Le Merrer (23), pierre Sarda (22), Jeanne Amiel (2), Stanislas Lyonnet (2), David Geneviève (22)

1. génétique médicale, faculté de médecine de Montpellier, CHU montpellier, montpellier, France
2. Département de Génétique, Unité Inserm U781, Institut Imagine, Hôpital Necker enfants Malades, CLAD Ile de France, paris, France
3. Département de Cytogénétique, Hospices civil de Lyon, Centre des neurosciences, Tiger, Université Claude Bernard Lyon 1, CLAD centre-est, lyon, France
4. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, paris, France
5. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, CLAD Ouest, tours, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, CLAD Sud-PACA, marseille, France
7. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CLAD Nord, lille, France
8. Centre de Génétique, Hôpital d'enfant, CLAD Est, dijon, France
9. Service de Génétique médicale, Hôpital Sud, CLAD Ouest, rennes, France
10. Service de Génétique, Hôpital Pellegrin, CLAD Sud-Ouest, bordeaux, France
11. Service de Génétique, Hôpital saint Pierre, GH Sud Réunion, Ile de la Réunion, France
12. Service de Génétique, CHU de Rouen, rouen, France
13. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, CLAD Sud Languedoc-Roussillon, montpellier, France
14. Service de Génétique, CHU La Milétrie, CLAD Ouest, poitiers, France
15. Service de Génétique, Hôpital Poissy-saint Germain, poissy, France
16. Département de Génétique, CHU La Pitié-Salpêtrière, CLAD Ile de France, paris, France
17. Service de Génétique, CHU Nantes, CLAD Ouest, nantes, France
18. Service de Génétique, CHU Lenvai, CLAD Sud-PACA, nice, France
19. Service de Génétique, CHU Trousseau, CLAD Ile de France, paris, France
20. service de génétique médicale, Hôpital Sud, CLAD Ouest, rennes, France
21. Service de Génétique, Hôpital de Haute-pierre, CHU Strasbourg, CLAD Est, Strasbourg, France
22. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, CLAD Sud Languedoc-Roussillon, montpellier, France
23. Département de Génétique, Unité Inserm U781, Institut Imagine, Hôpital Necker enfants Malades, CLAD Ile de France, paris, France

**Auteur correspondant :** corsini carole (carole.corsini@gmail.com)

Le Syndrome de Kabuki (KS) est un syndrome rare associant diverses malformations à une déficience intellectuelle et à de nombreuses complications, qu'elles soient viscérales, orthopédiques, endocriniennes, immunitaires et/ou auto-immunes.

Le diagnostic précoce de KS permet une meilleure prise en charge de ces patients et prévient la survenue de complications telles que la surdité de perception, les conséquences graves de maladies auto-immunes ou l'obésité.

Cependant, le diagnostic de KS, qui repose sur un cortège de manifestations cliniques et de traits morphologiques caractéristiques et reconnaissables, reste difficile.

Nous décrivons un nouveau signe clinique, à savoir l'atténuation et / ou de l'absence congénitale du pli de l'InterPhalangienne Distale des troisièmes et quatrièmes doigts associée à une limitation de flexion des articulations correspondantes. Cet élément semble être spécifique du KS et permettrait ainsi d'aider le clinicien à établir le diagnostic de KS. **Mots-clefs :** Nouveau signe clinique, Plis de flexion, Atténuation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D006/#32

### Le syndrome de Cohen est lié à des altérations majeures de la glycosylation

Laurence Duplomb (1,2), Sandrine Duvet (3), Damien Picot (1), Gaëtan Jégo (4), Salima El Chehadeh-Djebbar (1,2), Nathalie Marle (1,2), Nadège Gigot (1,2), Bernard Aral (1,2), Virginie Carmignac (1), Julien Thévenon (1,2), Estelle Lopez (1), Jean-Baptiste Rivière (1,2), Christophe Philippe (5), Nathalie Droin (6), Edward Blair (7), François Girodon (8), Jean Donadieu (9), Christine Bellanné-Chantelot (10), Laurent Delva (4), Jean-Claude Michalski (3), Eric Solary (6), Laurence Fairve (1,2), François Foulquier (3), Christel Thauvin-Robinet (1,2)

1. Génétique et Anomalies du Développement, EA4271, Université de Bourgogne, Dijon, FRANCE
2. FHU-TRANSLAD, Département de Génétique, CHU Dijon, FRANCE
3. Université des Sciences et Technologies de Lille, UMR/CNRS 8576, IFR147, Villeneuve d'Ascq, FRANCE
4. Université de Bourgogne, Inserm UMR 866, Dijon, FRANCE
5. Département de Génétique, CHU Nancy, FRANCE
6. Institut Gustave Roussy, Inserm UMR1009, Villejuif, FRANCE
7. Department of Clinical Genetics, Churchill Hospital, Headington, Oxford, UNITED KINGDOM
8. Laboratoire d'Hématologie, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, FRANCE
9. French Severe Chronic Neutropenia Registry, Hôpital Trousseau, Paris, FRANCE
10. Département de Génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Université Paris VI Pierre et Marie Curie, Paris, FRANCE

**Auteur correspondant :** Duplomb Laurence (laurence.duplomb@chu-dijon.fr)

Le syndrome de Cohen (SC) est une maladie rare de transmission autosomique récessive, avec de nombreuses atteintes cliniques, associant notamment une dysmorphie faciale typique, une obésité, tronculaire, une rétinopathie pigmentaire, une neutropénie, une hyperlaxité ligamentaire et un retard mental non progressif. Le gène causal VPS13B code pour une protéine transmembranaire récemment décrite comme ancrée dans l'appareil de Golgi et nécessaire à son intégrité. Chez les patients atteints du SC, les études en immunofluorescence et microscopie électronique ont précédemment mis en évidence une désorganisation importante de l'appareil de Golgi. Comme c'est au sein de cet organe cellulaire que s'effectue, entre autres, la glycosylation des protéines nouvellement synthétisées, nous avons émis l'hypothèse qu'une altération de VPS13B pouvait entraîner des défauts de glycosylation et conduire ainsi aux multiples manifestations cliniques du SC. Nous montrons ici que le profil de glycosylation des protéines sériques de patients atteints de SC est anormal et atypique avec une accumulation significative de structures agalactosylées fucosylées ainsi que des structures asialylées fucosylées, démontrant ainsi un défaut majeur de maturation des glycanes. Bien que le profil de glycosylation de la transferrine soit normal chez les patients, nous montrons également que, dans les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs), ICAM-1 et LAMP-2, deux protéines cellulaires fortement glycosylées, ont un profil de migration altérées; sur des gels de SDS-polyacrylamide. L'inactivation in vitro de VPS13B par des expériences d'ARN interférence confirme ces défauts de glycosylation. Alors que les traitements avec de la Brefeldin A montrent que le transport intracellulaire rétrograde est normal dans les fibroblastes de patients atteints, nous montrons que les endosomes précoces sont quasiment absents de ces cellules et que les lysosomes sont anormalement larges, suggérant un rôle crucial de VPS13B dans le trafic endosomes-lysosomes. Notre travail apporte de nombreuses évidences d'un rôle majeur de VPS13B dans la fonction de l'appareil de Golgi et laisse suggérer que ce défaut de glycosylation puisse être un nouvel élément clé dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques du syndrome de Cohen.

**Mots-clefs :** Syndrome de Cohen, VPS13B, Glycosylation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D007/#38

### Identification d'une nouvelle mutation mitochondriale au niveau de la sous-unité III de la cytochrome c oxydase chez une famille Tunisienne atteinte du syndrome de Leigh

Mkaouar-Rebai Emna (1), Ellouze Emna (2), Chamkha Imen (1), Kammoun Fatma (2), Triki Chahnez (2), Fakhfakh Faiza (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie  
2. Service de Neurologie Infantile, C.H.U. Hédi Chaker de Sfax, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Mkaouar-Rebai Emna (emna\_mkaouar@mail2world.com)

Les maladies mitochondriales regroupent une grande variété de pathologies caractérisées par un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale et se traduisent par un déficit énergétique. Ces maladies présentent une grande hétérogénéité clinique, avec une expression pouvant se manifester de la période néonatale jusqu'à une période avancée de la vie et une atteinte de n'importe quel tissu ou organe (neuromusculaire, neurosensorielle, hépatique, cardiaque, rénale...). Tous les modes de transmission sont possibles, puisque les maladies mitochondriales possèdent un double contrôle génétique avec, d'une part, l'ADN mitochondrial de transmission exclusivement maternelle, et d'autre part, le génome nucléaire avec plus de 1000 gènes potentiellement impliqués. Les mutations mitochondriales peuvent toucher soit les gènes d'ARNt ou les gènes d'ARNr de l'ADN mitochondrial (ADNmt), soit les gènes codant pour des protéines de l'un des complexes de la chaîne respiratoire. Le Cytochrome c oxydase (COX) est une composante essentielle de la chaîne respiratoire mitochondriale qui catalyse la réduction de l'oxygène moléculaire par la réduction du cytochrome c. Dans cette étude, nous avons étudié une famille Tunisienne dont les membres sont atteints du syndrome de Leigh. L'étude génétique a révélé la présence d'une nouvelle mutation mitochondriale détectée à l'état hétéroplasmique au niveau de l'ADN extrait à partir du sang et de la muqueuse buccale de 2 membres affectés. Il s'agit d'une mutation faux sens touchant une valine très conservée au niveau de la sous-unité III de la cytochrome c oxydase (V91A ; m.9478T>C). Elle a été retrouvée avec un taux d'hétéroplasmie assez élevé dans les tissus de l'endoderme (muqueuse buccale) et le mésoderme (sang). Cependant, elle était presque absente dans les tissus provenant de l'ectoderme (follicules pileux). Elle était aussi absente chez 120 contrôles et l'analyse par le logiciel PolyPhen a montré que l'indice d'hydrophobicité a changé de 1,276 à 0,242 et que le nombre de structures de la protéine 3D a diminué de 39 à 32, ce qui pourrait affecter l'interaction entre la sous-unité III de la cytochrome c oxydase avec les autres sous-unités.

**Mots-clefs :** mutation mitochondriale, COXIII, syndrome de Leigh

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D008/#39

### Le syndrome de Wiedemann-Beckwith: de la forme multi-tumorale sporadique, au corticosurrénalôme familial isolé.

Marwa Mastouri Haddaji (1), Dorra H'mida Ben Brahim (1), Sonia Nouri (2), Fatma Chioukh (3), Sabeur Hamami (4), Saoussen Trabelsi (1), Marwa Chourabi (1), Sihem Sassi (1), Soumaya Mougou (1), Moez Gribaa (1), Abdelfattah Zakhama (5), Neji Gueddiche (4), Hassen Seboui (6), Kamel Monastiri (3), Ali Saad (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie  
2. Service de néonatalogie, CHU Farhat HACHED Sousse, Sousse, Tunisie  
3. Service de néonatalogie, CHU Fattouma BOURGUIBA, Monastir, Tunisie  
4. Service de pédiatrie, CHU Fattouma BOURGUIBA, Monastir, Tunisie  
5. Service de cytopathologie, CHU Fattouma BOURGUIBA, Sousse, Tunisie  
6. Service de néonatalogie, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant :** Haddaji Mastouri Marwa (marwa.mastouri@gmail.com)

**Introduction :** Le syndrome de Wiedemann-Beckwith (SWB) est un syndrome de croissance excessive prédisposant selon les mécanismes mutationnels mis en jeu à la survenue de tumeurs embryonnaires. Les mécanismes génétiques intéressent deux domaines distincts (IC1 et IC2) de la région 11p15 soumise à l'empreinte parentale. La variabilité génotypique du SWB est à l'origine d'un spectre clinique très large allant des formes pauci-symptomatiques aux formes sévères multitumorales de découverte prénatale. Devant cette grande variabilité clinique, les signes cardinaux du SWB s'avèrent désormais insuffisants pour mener à bien le diagnostic, d'où l'intérêt de l'analyse génétique de la région 11p15 qui permet d'apporter une aide précieuse au diagnostic et au pronostic.

**Matériel et méthodes :** Nous avons effectué dans le cadre de ce travail une étude transversale portant sur 9 patients, ayant bénéficié d'une analyse moléculaire de la région chromosomique 11p15.

**Résultats :** Le diagnostic du SWB a été confirmé chez nos 9 patients. Nous avons, chez le fœtus N°1, retrouvé une disomie paternelle en mosaïque. Il s'agit de l'anomalie génétique réputée de plus mauvais pronostic qui a entraîné un phénotype très sévère. Nous avons, par ailleurs, retrouvé chez la patiente N°7, une hypométhylation partielle de IC2 révélée par une forme pauci-symptomatique. Dans les observations restantes, nous avons pu identifier une disomie paternelle homogène et un déficit de méthylation homogène de IC2 chez 6 patients. Le déficit de méthylation homogène de l'IC2 présent chez 6 de nos patients était, conformément aux données de la littérature, la forme la plus fréquente.

**Conclusion :** Ces résultats nous ont permis de proposer à nos patients un conseil génétique et une prise en charge adaptés aux différents risques évolutifs des entités ainsi démembrées. Le SWB constitue ainsi un exemple type de pathologie liée l'empreinte parentale. Il illustre, par la complexité des mécanismes mis en œuvre, la nécessité de collaboration entre généticiens, pédiatres, néonatalogues et chirurgiens pédiatres.

**Mots-clefs :** Syndrome de Wiedemann-Beckwith, Empreinte génomique, corrélation génotype-phénotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D009/#47

### Etablissement par PCR multiplexe de profils délétionnels affectant le gène DMD chez 170 patients Algériens présentant un phénotype DMD/BMD

Amira Cherrallah (1), Traki Benhassine (1), Sonia Nouioua (2), Samira Makri (3), Malika Chaouch (4), Meriem Tazir (2), Tarik Hamadouche (5)

1. Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences Biologiques, USTHB, Bab Ezzouar, Alger, Algérie
2. Service de Neurologie et Laboratoire de Neurosciences, CHU Alger Centre, Alger, Algérie
3. Service de Neurologie, EHS Ali Ait idir, Alger, Algérie
4. Service de Neurologie, CHU Ben Aknoun, Alger, Algérie
5. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Département de Biologie, Faculté des Sciences, UMBB, Boumerdès, Algérie

**Auteur correspondant :** Hamadouche Tarik (tarikhamadouche@gmail.com)

Les myopathies de Duchenne (DMD) et de Becker (BMD) sont des dystrophies musculaires progressives à transmission récessive liée au chromosome X. Ces deux formes alléliques d'une même pathologie sont les plus fréquentes et les plus sévères des maladies neuromusculaires rencontrées chez l'homme (incidence 1/3.500-6.000 garçons). Elles sont causées par des mutations dans le gène DMD, qui code pour la dystrophine, une protéine sarcolemmale responsable de l'intégrité du tissu musculaire.

Dans notre travail, 170 patients de sexe masculin, issus de familles indépendantes et provenant de différents centres hospitaliers d'Alger et ses environs, ont été analysés via deux PCR multiplexes ciblant les exons les plus fréquemment délétés dans le gène DMD.

Nos résultats ont montré que 68% des patients présentaient des délétions d'un ou plusieurs exons dans l'un des deux hot-spots mutationnels 3' ou 5'du gène DMD, la région distale étant plus fréquemment mutée (85%). L'étendue des délétions variait entre 1 et 32 exons, avec une moyenne de 4 exons. Les régions les plus fréquemment délétées étaient les exons 45, 46, 47, 48, 50, 51 et 52, avec une nette prédominance pour l'exon 48 (50%). La règle du cadre de lecture était respectée dans la majorité des cas et corrélait avec le phénotype clinique soulevé. De plus, la mutation c.525delT dans le gène SGCG, codant la gamma-sarcoglycane, était présente chez 7% des patients non délétés, suggérant ainsi que le phénotype clinique pouvait parfois induire en erreur le clinicien.

La détection de délétions causales dans le gène DMD grâce à une approche d'analyse simple a permis de poser un diagnostic clair de dystrophinopathie chez 2/3 des patients analysés, revêtant de fait une importance primordiale pour la création d'un registre national des patients atteints de DMD/BMD et laissant entrevoir l'accès des malades à de futurs traitements thérapeutiques génotype-spécifiques.

**Mots-clefs :** Population Algérienne, Dystrophinopathies, Criblage de délétions intragéniques

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D010/#48

### Les ataxies autosomiques récessives : Analyse moléculaire de patients Algériens

Wahiba Hamza (1), Lamia Ali Pacha (2), Tarik Hamadouche (3), Meriem Tazir (2), Michel Koenig (4), Traki Benhassine (1)

1. Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, FSB, USTHB, Bab Ezzouar, Alger, Algérie
2. Service de Neurologie et Laboratoire de Neurosciences, CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie
3. Laboratoire de Biologie Moléculaire, FS, UMBB, Boumerdès, Algérie
4. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, IGBMC, Illkirch, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Benhassine Traki (trakibenhassine@hotmail.com)

Les ataxies autosomiques récessives, ARCA (Autosomal Recessive Cerebellar Ataxia) sont des pathologies neurodégénératives progressives dont la complexité se manifeste par l'importante hétérogénéité, tant phénotypique, avec un spectre clinique très étendu, que génétique, avec plus d'une vingtaine de gènes différents identifiés à ce jour. Devant la grande hétérogénéité phénotypique, le diagnostic différentiel des ataxies repose donc exclusivement sur l'exploration moléculaire des patients.

Nous avons exploré au plan moléculaire un panel de 50 patients (44 familles) d'origine Algérienne par PCR et séquençage direct de gènes responsables d'ARCA, criblant prioritairement, et de manière systématique, les mutations/gènes à l'origine des formes les plus fréquentes d'ARCA, à savoir l'ataxie de Friedreich (FRDA) et l'ataxie avec déficit isolé en vitamine E (AVED), puis certains gènes responsables d'autres formes d'ARCA en nous appuyant sur certains signes d'orientation clinique (âge d'apparition, vitesse de progression, sévérité, bilan biologique, ...). Les gènes criblés étaient ceux responsables des ataxies avec apraxie oculomotrice de type 1 et 2 (AOA1 et 2, respectivement); l'ataxie avec déficit primaire en coenzyme Q10 (ARCA2); l'ataxie avec polyneuropathie, hypoacousie, rétinite pigmentaire et cataracte (PHARC); l'ataxie de Salih et l'ataxie spastique autosomique récessive de Charlevoix-Saguenay (ARSACS). Nous avons par la suite sélectionné 16 patients pour analyse par capture ciblée couplée au séquençage haut-débit, approche qui nous a permis un criblage simultané et exhaustif des exons de 57 gènes qui, lorsque porteurs de mutations, sont responsables d'ataxies.

A travers notre approche, nous avons identifié dans notre panel, en sus des formes FRDA et AVED, des mutations responsables des ataxies AOA1, AOA2 et ARSACS, permettant ainsi de poser un diagnostic précis pour près de la moitié des patients (19 patients). En revanche, en dépit de signes cliniques évocateurs, aucune mutation affectant les gènes responsables des formes PHARC, ARCA2 ou de l'ataxie de Salih n'ont pu être mises en évidence, ce qui rendait bien compte de l'obstacle majeur que constitue l'hétérogénéité des ARCA pour le diagnostic étiologique. Le séquençage haut-débit à quant à lui permis de poser un diagnostic de certitude pour 4 patients.

Dans notre pays, la caractérisation précise des mutations les plus fréquentes impliquées dans les formes d'ataxies à transmission autosomique récessive permettrait ainsi la mise en place d'une stratégie diagnostique moléculaire adaptée à notre population.

**Mots-clefs :** Population Algérienne, Ataxies autosomiques récessives, Criblage moléculaire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D011/#50

### Mise en évidence des anomalies d'épissage liées à des variations silencieuses et introniques identifiées sur le gène ABCB11 grâce à l'étude des transcrits hépatiques

Anne SPRAUL (1), Christophe OLIVEIRA (2), Emmanuel GONZALES (3), Emmanuel JACQUEMIN (4), Patrice THEROND (2)

1. Biochimie, BICETRE, LE KREMLIN BICETRE, France
2. BIOCHIMIE, BICETRE, LE KREMLIN BICETRE, France
3. Hépatologie Pédiatrique, Hôpital BICETRE, LE KREMLIN BICETRE, France
4. HEPATOLOGIE PEDIATRIQUE, BICETRE, LE KREMLIN BICETRE, France

**Auteur correspondant :** SPRAUL Anne (anne.spraul@bct.aphp.fr)

La cholestase intrahépatique progressive familiale de type 2 (PFIC2), est une maladie autosomique récessive due à des mutations du gène ABCB11 codant la protéine BSEP (bile salt export pump). Ce transporteur présent au pôle canaliculaire de l'hépatocyte assure la sécrétion des sels biliaires dans la bile. Chez les patients déficitaires, les signes cliniques de cholestase apparaissent souvent dans les premiers mois de vie avec un ictère récurrent ou permanent associé à une hépatomégalie et à un prurit sévère. L'apparition rapide d'une insuffisance hépatique (IH) et/ou la progression vers un carcinome hépatocellulaire peut compliquer le cours de la PFIC2. Ces complications sont des indications à la transplantation hépatique. L'analyse du gène ABCB11 chez les patients PFIC2 permet d'établir un diagnostic moléculaire lorsque 2 mutations délétères sont identifiées. Cependant la preuve que des mutations silencieuses ou introniques supposées altérer l'épissage puissent être délétères reste incertaine et repose sur des analyses de prédiction bioinformatiques. Du fait de l'expression exclusive de BSEP dans le foie, et de l'absence de transcrits illégitimes dans les autres cellules, l'analyse des transcrits chez les patients ne peut s'effectuer que sur du tissu hépatique.

Nous avons étudié les transcrits hépatiques du gène ABCB11 chez 5 patients atteints de PFIC2 dont le séquençage du gène avait identifié 1) une mutation délétère hétérozygote associée à une autre variation hétérozygote - silencieuse (c.3003A>G, patient P1) ou intronique (c.3213+4A>G, patient P2) - susceptible d'altérer l'épissage ; 2) une mutation homozygote ou hétérozygote composite associée à des variants polymorphes (p.Phe90Phe, p.Gly319Gly, p.Val444Ala, p.Met677Val, p.Ala1028Ala, Thr1086Thr, c.389+8G>A) dont certains étaient rapportés comme pouvant altérer l'épissage selon des études réalisées sur minigène (Byrne et al. Hepatology 2009).

Aucune anomalie d'épissage liée aux variants polymorphes identifiés chez les différents patients PFIC2 n'a pu être mise en évidence. La variation silencieuse c.3003A>G identifiée chez le patient P1 génère un site cryptique d'épissage et la variation intronique c.3213+4A>G identifiée chez le patient P2 entraîne un saut de l'exon 24, comme prédit par les analyses in silico. Ces résultats illustrent l'intérêt d'analyser les transcrits afin d'identifier le caractère délétère ou non de nouveaux variants introniques ou silencieux. Cette approche d'étude des transcrits de ABCB11 en RT-PCR a permis d'établir de manière certaine le diagnostic de PFIC2 chez les patients P1 et P2.

**Mots-clefs :** PFIC2, BSEP, RT-PCR

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D012/#52

### Caractérisation de 12 mutations du gène ACVRL1 et étude de leurs implications physiopathologiques dans la maladie de Rendu-Osler.

Ferdos Alaa el Din (1,4), Vincent Thoreau (1), Montserrat Rodriguez-Ballesteros (1,2), Sabine Bailly (3), Raghida Abou Merhi (4), Brigitte Gilbert-Dussardier (1,2,5), Alain Kitzis (1,2), Sylvie Patri (1,2)

1. Equipe Génétique des Maladies Rares, Université, Poitiers, France
2. Service de Génétique, CHU, Poitiers, France
3. Unité INSERM U1036, CEA, Grenoble, France
4. Université Libanaise, Campus Hariri Hadath, Beyrouth, Liban
5. Centre de Compétence de la Maladie de Rendu-Osler, CHU, Poitiers, France

**Auteur correspondant :** PATRI Sylvie (sylvie.patri@chu-poitiers.fr)

La maladie de Rendu-Osler (RO) ou Télangiectasie Hémorragique Héritaire (THH) est une dysplasie vasculaire d'origine génétique à transmission autosomique dominante. Les manifestations cliniques sont variables entre les familles et au sein d'une même famille. La prévalence de la maladie est d'environ 1:10.000 et sa pénétrance est liée à l'âge (50% à 15 ans et quasiment totale à 50 ans).

Les défauts génétiques responsables du syndrome sont liés à des gènes impliqués dans la voie de signalisation du TGF- $\beta$ . Dans 90% des cas, il s'agit d'une mutation des gènes ACVRL1 ou ENG codant respectivement pour les récepteurs ALK1 et Endogline. Le gène SMAD4 est impliqué surtout en association avec des polyposes juvéniles. Une étude récente a montré que des mutations du gène BMP9 seraient responsables d'une anomalie vasculaire de phénotype proche du THH. Des études de liaison ont détecté d'autres gènes localisés sur les chromosomes 5 et 7.

Plus de 700 mutations ont été décrites pour les gènes ACVRL1 et ENG chez les patients RO. Nous avons étudié à Poitiers plus de 400 patients. Pour 12 d'entre eux, des variants de signification inconnue à ce jour ont été trouvés : 11 faux-sens jamais décrits dans la littérature et un variant intronique (+5 de l'intron 7).

Afin de caractériser l'effet de ces mutations, nous avons utilisé un vecteur d'expression du gène ACVRL1 et, par mutagenèse dirigée, obtenu le gène muté. Après transfection du plasmide dans des cellules NIH3T3, nous avons testé l'activité de la protéine mutée en réponse à BMP9. Parmi les 11 mutations faux-sens étudiées, dix ont un effet délétère et une n'a pas de répercussion sur l'activité fonctionnelle de la protéine ALK1. Par ailleurs, la synthèse et la maturation protéiques ont été vérifiées par western blot et la localisation cellulaire des récepteurs mutés a été étudiée par microscopie confocale et biotinylation de surface.

L'impact sur l'épissage de la mutation faux-sens sans répercussion fonctionnelle (trouvée chez deux patients apparentés) et de la mutation intronique familiale localisée en dehors des sites consensus (+5 de l'intron 7) a été étudié par la technique du minigène en utilisant le plasmide pSplice-Express. Cette technique permet d'objectiver l'implication d'une mutation dans la création d'un nouveau site d'épissage.

La combinaison des deux techniques utilisées dans ce travail (étude de l'implication d'une mutation sur l'épissage et/ou sur l'activité fonctionnelle de la protéine) permet de préciser les conséquences physiopathologiques d'une mutation nouvellement décrite.

**Mots-clefs :** RENDU OSLER, ACVRL1, Génétique fonctionnelle



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D013/#62

### Etude des gènes nucléaires POLG et Twinkle à fonction mitochondriale dans le diabète mitochondrial

Mariem Fourati (1), Najla Mezghani (1), Mouna Mnif (2), Mohamed Abid (2), Fakhfakh Faiza (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, Tunisie  
2. Service d'endocrinologie, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Fourati Mariem (mariamfourati@ymail.com)

Les maladies mitochondriales sont très variables, elles peuvent toucher plusieurs organes comme le cœur en cas de cardiomyopathie, les oreilles en cas de surdité, le cerveau en cas de maladies neurodégénératives, le pancréas en cas de diabète... Le dénominateur commun de ces maladies est le dysfonctionnement de la chaîne respiratoire, jouant un rôle essentiel dans la stimulation de la sécrétion d'insuline et la régulation du taux du glucose sanguin. Ce déficit peut être due à des anomalies liées à l'ADN mitochondrial et ou à l'ADN nucléaire. En effet, la mitochondrie est semi autonome dont 20% des protéines sont codées par l'ADN mitochondrial et 80% par l'ADN nucléaire. De ce fait, plusieurs gènes nucléaires sont responsables de plusieurs maladies mitochondriales. On note par exemple les gènes POLG, Twinkle, MPV17, TK2, ANT1... qui sont impliqués dans la chaîne respiratoire mitochondriale et responsables de la réplication de l'ADN mitochondrial.

Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à étudier des patients Tunisiens présentant des délétions au niveau de leur ADN mitochondrial et souffrant de diabète mitochondrial, en se focalisant sur la recherche des mutations et des polymorphismes dans les gènes nucléaires POLG et Twinkle.

La recherche des mutations et des polymorphismes a été réalisée par PCR moyennant des amorces spécifiques suivi par un séquençage.

Les résultats ont montré l'absence complète des mutations au niveau des exons 7, 13, 14, 19, 20 et 22 du gène POLG ainsi que dans les exons 2, 3, 4 et 5 du gène Twinkle. Cependant, on note dans le gène POLG, la présence de deux nouveaux polymorphismes hétérozygote c.1147A>G et c.3594A>G au niveau des exons 5 et 22 successivement, deux polymorphismes décrits c.2071-22 T>C à l'état homozygote (rs2072267) au niveau de l'intron 11 et c.3708 G>T à l'état hétérozygote (rs3087374) au niveau de l'exon 23 et une insertion de quatre bases c.2734+37 – 2734+ 38 ins AGGT au niveau de l'intron 17.

Dans cette étude nous voulons chercher s'il y a une éventuelle corrélation entre les mutations trouvées au niveau des gènes nucléaires et les mutations et les délétions trouvées déjà au niveau de leur ADN mitochondrial.

**Mots-clés :** Diabète mitochondrial, gène nucléaire POLG, gène nucléaire Twinkle

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D014/#65

### Mutational analysis of the mitochondrial DNA and the nuclear FXN, C10orf2 and POLG1 genes in a Tunisian patient with Friedreich's ataxia-like

Marwa Maalej (1)

1. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de médecine de sfax, SFAX, Tunisie

**Auteur correspondant :** Maalej Marwa (marwa.maalej@yahoo.fr)

Mitochondria are the energy generating centres of the cell, and mitochondrial dysfunction leads to a variety of human diseases. Collectively, mitochondrial pathologies represent a common cause of genetic disease. This is understandable given that 5% of all genes in the nucleus are needed to build and maintain mitochondria. Genes encoding the DNA helicase TWINKLE (C10orf2) or the two subunits of mtDNA polymerase (POLG)(POLG1 and POLG2) have a direct effect on the mitochondrial DNA replication machinery and were reported in many mitochondrial disorders. Friedreich's ataxia (FRDA) is the common cause of ataxia often associated with the expansion of a GAA repeat in intron 1 of the frataxin gene (FXN). Mitochondrial DNA could be considered as a candidate modifier factor for FRDA disease, since mitochondrial oxidative stress is thought to be involved in the pathogenesis of this disease. We screened the FXN, POLG1 and C10orf2 genes in a Tunisian patient with clinical features of Friedreich's ataxia-like. The results showed the absence of the expansion of a GAA triplet repeat in intron 1 of the FXN gene. Besides, the sequencing of all the exons and their flanking regions of the FXN, POLG1 and C10orf2 genes revealed the presence of intronic polymorphisms. In addition, screening of the mtDNA revealed the presence of several mitochondrial known variations and the absence of mitochondrial deletions in this patient. The detected m.16187C>T and the m.16189T>C change the order of the homopolymeric tract of cytosines between 16184 and 16193 in the mitochondrial D-loop and could lead to a mitochondrial dysfunction by inhibiting replication and affecting protein involved in the replication process of the mtDNA which could be responsible for the clinical features of Friedreich ataxia observed in the studied patient.

**Mots-clés :** Friedreich's ataxia, FXN, TWINKLE

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D016/#73

### AP1S2 est muté dans le syndrome de Pettigrew, déficience intellectuelle liée au chromosome X avec malformation de Dandy-Walker, anomalie des ganglions de la base et épilepsie.

Pierre CACCIAGLI (1), Jean-Pierre DESVIGNES (1), Nadine GIRARD (2), Marc DELEPINE (3), Diana ZELENKA (4), Mark LATHROP (5), Nicolas LEVY (1), David LEDBETTER (6), William DOBYNS (7), Laurent VILLARD (1)

1. Inserm UMR\_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Service de Neuroradiologie, Hôpital d'Enfants de La Timone, Marseille, France
3. CEA Institut Génomique, Centre National de Génotypage, Evry, France
4. CEA - Institut de Génomique, Centre National de Génotypage, Evry, France
5. Fondation Jean Dausset, CEPH, Paris, France
6. Geisinger Health System, Geisinger Health System, Danville, USA
7. Departments of Pediatrics and Neurology, University of Washington, Seattle, USA

**Auteur correspondant :** VILLARD Laurent (laurent.villard@univ-amu.fr)

Le syndrome de Pettigrew (MRXS5) a été décrit il y a 20 ans dans une famille dans laquelle neuf personnes sur quatre générations présentaient une dysmorphie faciale, une déficience intellectuelle, la malformation de Dandy-Walker et une choréo-athétose. Des dépôts de fer dans les noyaux gris centraux ont également été observés chez quatre des neufs patients. Nous rapportons l'identification d'une mutation dans le gène AP1S2 localisé en Xp22.2 dans la famille décrite princeps de Pettigrew et al. en utilisant le séquençage de l'exome du chromosome X. Nous précisons le phénotype correspondant à ce syndrome de déficience intellectuelle lié au chromosome X. La mutation d'épissage que nous avons identifiée ségrège avec la maladie dans cette famille et entraîne la perte de 46 acides aminés dans le domaine adaptateur à la clathrine de la protéine AP1S2. Cette mutation du gène AP1S2 est la première mutation susceptible de provoquer un arrêt prématuré de la séquence codante (ou l'absence de la protéine). Les familles touchées par une mutation du gène AP1S2 sont rattachées à trois numéros OMIM différents (MIM 300629, 300630 et 304340). Notre analyse du phénotype clinique montre qu'ils font tous partie du même syndrome complexe, avec une expressivité clinique très variable.

**Mots-clés :** Déficience intellectuelle, Chromosome X, Identification de mutations

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D017/#76

### Modulation de l'âge de début dans la maladie de Huntington : implication de nouveaux gènes modificateurs

Marwa Chourabi (1), Dorra H'mida-Ben Brahim (1), Sana Ben Amor (2), Imed Harrabi (3), Saoussen Trabelsi (1), Marwa Haddaji Mastouri (1), Sihem Sassi (1), Moez Gribaa (1), Turkia Lammouchi (2), Soufien Ben Amrou (2), Ali Saad (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de la Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie
2. Service de Neurologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie
3. Service d'épidémiologie et de statistiques médicales, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant :** CHOURABI Marwa (chourabimarwa@hotmail.fr)

**INTRODUCTION:** La maladie de Huntington (MH) est une maladie héréditaire de transmission autosomique dominante. Elle est caractérisée par une dégénérescence des neurones du striatum et du cortex cérébral entraînant des troubles de moteurs, psychiatriques et cognitifs. Elle présente une grande variabilité clinique avec un âge de début très variable, le plus souvent entre 30 et 45 ans. Elle est due à une expansion du triplet CAG au niveau de l'exon 1 du gène IT15, situé sur le chromosome 4 en 4p16.3 et codant pour la protéine huntingtine.

L'objectif de ce travail consiste à établir l'implication de 9 gènes modificateurs dans la modulation de l'âge de début de la MH.

**METHODES :** Notre étude a été effectuée chez 15 patients Tunisiens atteints de la MH. L'âge de début de la maladie varie chez nos patients entre 24 et 72 ans. Nous avons étudiés 10 polymorphismes localisés au niveau des gènes : IT15, TCERG1, DMPK, ATXN1, DRPLA, JPH3, TBP, GRIN2A (rs1969060 C/T) et GRIN2B (rs890 T/G). Nous avons pour cela utilisé les techniques de PCR triple amorces (TP-PCR) et le séquençage direct.

**RESULTATS :** Notre étude a été réalisée moyennant le logiciel bioinformatique SPSS (version 20.0). Nous avons établi une corrélation négative entre l'âge d'apparition de la MH et la taille de la répétition pathologique ( $R = -0.863$ ,  $p = 0.000$ ). Cette répétition explique 74 % de la variabilité totale de l'âge de début de la maladie chez nos patients.

Deux corrélations négatives significatives ont été également établies entre l'âge d'apparition de la MH et la taille de la répétition CTG au niveau des gènes JPH3 ( $R = -0.547$  ;  $p = 0.002$ ) et DMPK ( $R = -0.470$  ;  $p = 0.045$ ). L'implication de ces deux polymorphismes dans la modulation de l'âge de début de la maladie sont respectivement de 13.07% ( $p = 0.000$ ) et 40.38% ( $p = 0.000$ ).

Nous avons par ailleurs, établi l'implication des polymorphismes étudiés au niveau des gènes : IT15 (la répétition CAG normale), TCERG1, DRPLA, ATXN1, TBP, GRIN2A et GRIN2B dans la modulation de l'âge de début de la MH.

**CONCLUSION :** Nous rapportons ici la première étude génétique Nord-Africaine concernant la MH. Nous avons investigué 4 nouveaux polymorphismes localisés au niveau des gènes : DRPLA, ATXN1, DMPK et JPH3 dans la modulation de l'âge de début de la MH. Nos résultats représentent un premier pas vers l'établissement d'un modèle de prédiction d'âge de début spécifique de notre population.

**Mots-clés :** maladie de Huntington, âge de début, gènes modificateurs

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D018/#80

### Description prénatale d'un cas de syndrome de Carpenter avec une nouvelle mutation du gène RAB23

Damien HAYE (1), Corinne COLLET (2), Catherine Sembely-Taveau SEMBELY-TAVEAU (3), Georges HADDAD (4), Christelle DENIS (5), Nathalie SOULE (6), Annie-Laure SUC (7), Antoine LISTRAT (8), Annick TOUTAIN (1)

1. Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France
2. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Service de Radiologie Pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Clocheville, Tours, France
4. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier, Blois, France
5. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France
6. Service de Médecine Pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Clocheville, Tours, France
7. Service de Médecine Néonatale, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France
8. Service de Neurochirurgie Pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France

**Auteur correspondant :** HAYE Damien (damien.haye@univ-tours.fr)

Le syndrome de Carpenter, ou acrocéphalopolysyndactylie de type II, est une affection rare, autosomique récessive, liée à des mutations du gène RAB23 et caractérisée par une craniosténose complexe, une polydactylie postaxiale des mains, une polydactylie préaxiale des pieds et des syndactylies membraneuses. A ce jour, 12 mutations différentes, identifiées chez 33 patients de 25 familles différentes, ont été rapportées dans la littérature.

Nous rapportons une description prénatale de syndrome de Carpenter avec une nouvelle mutation faux-sens identifiée dans le gène RAB23. Durant la vie foetale, il a été mis en évidence par échographie un hygroma colli, des fémurs incurvés, une déformation du crâne et une cardiopathie complexe de type tétralogie de Fallot. L'observation de fémurs incurvés et d'une déformation de la voûte crânienne avec suspicion d'embarrure au scanner osseux foetal, a fait émettre l'hypothèse d'une ostéogénèse imparfaite. A la naissance, l'examen physique et les radiographies ont permis d'asseoir le diagnostic de syndrome de Carpenter. A posteriori, la craniosynostose et l'hexadactylie préaxiale des pieds étaient visualisables au scanner osseux foetal. Le séquençage du gène RAB23 a identifié une mutation homozygote (c.481G>C ; p.Val161Leu) qui semble diminuer l'efficacité de l'épissage de l'exon 6 et déstabiliser la structure protéique secondaire au site de fixation au GDP.

Cette observation illustre la difficulté du diagnostic prénatal de syndrome de Carpenter en l'absence de cas index dans la famille. A notre connaissance, le diagnostic prénatal a été suggéré dans un seul cas sur des données échographiques bien que 4 autres observations anténatales mentionnent une déformation de la voûte crânienne associée à des signes variables, principalement des anomalies des extrémités et incluant pour un cas, des fémurs incurvés. Par ailleurs, une cardiopathie congénitale et des fémurs incurvés sont rarement observés chez les individus atteints d'un syndrome de Carpenter.

Le diagnostic de syndrome de Carpenter doit ainsi être envisagé en imagerie foetale en cas de déformation de la voûte crânienne associée à des fémurs incurvés et/ou une cardiopathie congénitale.

**Mots-clefs :** Syndrome de Carpenter, diagnostic prénatal, gène RAB23

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D019/#81

### Hypothèse d'une dérégulation des gènes DLX5/DLX6 à l'origine de l'ectrodactylie au locus SHFM1

Damien HAYE (1), Mélanie JIMENEZ-POCQUET (2), Agathe PAUBEL (2), Sandrine VONWILL (2), Béatrice BONIN-GOGA (3), Annick TOUTAIN (1)

1. Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France
2. Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire Bretonneau, Tours, France
3. Service de Chirurgie Maxillofaciale et Plastique de la Face et Stomatologie, Centre Hospitalier Universitaire Clocheville, Tours, France

**Auteur correspondant :** HAYE Damien (damien.haye@univ-tours.fr)

Les ectrodactylies, ou 'pieds et mains fendus' sont des malformations congénitales des membres qui constituent un cadre hétérogène sur le plan clinique et génétique. Le premier locus identifié dans ces malformations, SHFM1 ('split hand/foot malformation' 1), est localisé en 7q21.3. Ce locus a été déterminé à partir de l'analyse cytogénétique puis moléculaire de remaniements génomiques (délétions, translocations, inversions) identifiés chez des patients atteints d'ectrodactylies isolées ou d'ectrodactylies syndromiques (ectrodactylie avec dysostose mandibulofaciale ou syndrome de Patterson-Stevenson-Fontaine, ectrodactylie avec surdité) autosomiques dominantes. L'étude comparative de ces remaniements a permis de réduire la région chromosomique d'intérêt à une région minimale critique qui contient plusieurs gènes, dont les gènes DSS1, DLX5/DLX6 ainsi que de nombreux éléments régulateurs tels que l'enhancer BS1. Cependant à ce jour les mécanismes moléculaires précis sous-jacents à l'ectrodactylie restent non identifiés. Seule une mutation homozygote du gène DLX5 a été récemment décrite dans une famille d'ectrodactylie autosomique récessive. Des études sur un modèle murin avec double inactivation de *dlx5/dlx6* ont néanmoins prouvé l'implication de ces gènes dans la morphogénèse craniofaciale et des membres.

Dans une famille atteinte d'ectrodactylie autosomique dominante sur trois générations, nous avons posé le diagnostic de syndrome de Patterson-Stevenson-Fontaine. L'étude cytogénétique a mis en évidence une inversion paracentrique du chromosome 7 avec un point de cassure centromérique en 7q21.3 au locus SHFM1, qui coségrège avec l'affection. Afin de préciser le mécanisme moléculaire sous-jacent, nous avons effectué une analyse sur puce à ADN (CGH-array Agilent 180K), des études en hybridation in situ en fluorescence (FISH) avec des BAC de la région et un séquençage des gènes DLX5/DLX6.

L'analyse chromosomique sur puce à ADN n'a pas trouvé de déséquilibre génomique au niveau des points de cassure de l'inversion. L'analyse en FISH a permis de montrer que le point de cassure proximal de l'inversion est localisé dans la partie commune de deux BACs partiellement chevauchants (RP11-760F20 et RP11-94N7), dans une région dépourvue de gènes, entre DSS1 du côté centromérique et DLX5/DLX6 du côté télomérique, à proximité de l'enhancer BS1. Par ailleurs, le séquençage de DLX5 et de DLX6 n'a pas mis en évidence de mutation pathogène.

Ces résultats suggèrent que le mécanisme de l'ectrodactylie syndromique de cette famille, est lié à la proximité des points de cassure et de BS1. Des travaux ont montré que BS1 est impliqué dans une boucle d'interaction avec DLX5/DLX6. Une interruption de cette boucle d'interaction pourrait être à l'origine de certains cas d'ectrodactylie au locus SHFM1.

**Mots-clefs :** SHFM1, Syndrome de Patterson-Stevenson-Fontaine, Effet de position

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D020/#82

### Nouvelle mutation hétérozygote faux sens dans le domaine SAM du gène P63 chez une patiente marocaine : Implication pour la prise en charge et le conseil génétique.

Soukaina Guaoua (1), Mariam Tajir (2), Jaber Lyahyai (1), Mustapha El Alloussi (3), Abdelaziz Sefiani (1,2)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc.

2. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc.

3. Département de chirurgie orale, Faculté de Médecine Dentaire, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc.

**Auteur correspondant** : guaoua soukaina (soukainaguaoua@gmail.com)

« Nouvelle mutation hétérozygote faux sens dans le domaine SAM du gène P63 chez une patiente marocaine : Implication pour la prise en charge et le conseil génétique. »

"Novel heterozygous missense mutation in the SAM domain of the P63 gene in a Moroccan patient: Implications for management and genetic counseling."

Guaoua S1,2, Tajir M1,2, Lyahyai J1,2, El Alloussi M3, Sefiani A1,2

1Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc

2Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

3Department of Oral Surgery, Faculty of Dentistry, University of Mohammed V, Rabat, Morocco.

Le premier auteur: Guaoua Soukaina

L'auteur présentant: Tajir Mariam

Le syndrome Ankyloblépharon - anomalies ectodermiques - fente labiopalatine (AEC syndrome), appelé aussi syndrome de Hay-Wells est une maladie génétique autosomique dominante rare avec de multiples anomalies congénitales. Les manifestations cliniques incluent un ankyloblépharon filiforme adnatum, des anomalies ectodermiques (cheveux rares et crépus, érosions de la peau et anomalies de pigmentation, altérations des ongles et des dents avec hyposudation) et une fente labiale et/ou palatine. Le diagnostic repose sur des critères cliniques et des tests de génétique moléculaire du gène P63, qui est le seul gène associé au syndrome AEC. Toutes les mutations rapportées dans ce syndrome se traduisent par des substitutions d'acides aminés dans le domaine SAM (stérile alpha motif), et altèrent les interactions protéine-protéine. Nous rapportons dans ce travail le cas d'une patiente âgée de 2 ans et chez qui nous avons posé le diagnostic de syndrome AEC. L'étude moléculaire du gène P63 a mis en évidence la nouvelle mutation c.1798G>C (p.Gly600Arg) au niveau de l'exon 14 à l'état hétérozygote. Cette mutation n'a pas été trouvée chez les parents et les outils bioinformatiques étaient en faveur de sa pathogénicité. A travers ce travail, nous discutons l'importance de l'analyse moléculaire et du diagnostic précoce dans le syndrome AEC afin de mettre en place un conseil génétique approprié pour les parents et une prise en charge adéquate du patient.

Mots clefs : Syndrome AEC, Hay-Wells, domaine SAM, gène P63, mutation faux sens, conseil génétique, prise en charge.

**Mots-clefs** : Syndrome AEC, domaine SAM, gène P63

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D021/#83

### Mutational analysis of the mitochondrial dna and the nuclear fxn, c10orf2 and polg1 genes in a tunisian patient with friedreich's ataxia-like

Marwa Maalej (1), Emna Mkaouer Rebai (1), Mouna Mnif (2), Najla Mezghani (1), Imen Ben Ayed (1), Imen Chamkha (1), Mohamed Abid (2), Faiza Fakhfakh (1)

1.Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie

2.Service d'endocrinologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant** : Maalej Marwa (marwamaalej7@gmail.com)

Mitochondria are the energy generating centres of the cell, and mitochondrial dysfunction leads to a variety of human diseases. Collectively, mitochondrial pathologies represent a common cause of genetic disease. This is understandable given that 5% of all genes in the nucleus are needed to build and maintain mitochondria. Genes encoding the DNA helicase TWINKLE (C10orf2) or the two subunits of mtDNA polymerase (POLg)(POLG1 and POLG2) have a direct effect on the mitochondrial DNA replication machinery and were reported in many mitochondrial disorders. Friedreich's ataxia (FRDA) is the common cause of ataxia often associated with the expansion of a GAA repeat in intron 1 of the frataxin gene (FXN). Mitochondrial DNA could be considered as a candidate modifier factor for FRDA disease, since mitochondrial oxidative stress is thought to be involved in the pathogenesis of this disease. We screened the FXN, POLG1 and C10orf2 genes in a Tunisian patient with clinical features of Friedreich's ataxia-like. The results showed the absence of the expansion of a GAA triplet repeat in intron 1 of the FXN gene. Besides, the sequencing of all the exons and their flanking regions of the FXN, POLG1 and C10orf2 genes revealed the presence of intronic polymorphisms. In addition, screening of the mtDNA revealed the presence of several mitochondrial known variations and the absence of mitochondrial deletions in this patient. The detected m.16187C>T and the m.16189T>C change the order of the homopolymeric tract of cytosines between 16184 and 16193 in the mitochondrial D-loop and could lead to a mitochondrial dysfunction by inhibiting replication and affecting protein involved in the replication process of the mtDNA which could be responsible for the clinical features of Friedreich ataxia observed in the studied patient.

**Mots-clefs** : friedreich ataxia, fxn, c10orf2



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D022/#84

### Des sites cryptiques d'épissage introniques et/ou exoniques du gène MYBPC3 sont des causes fréquentes de Cardiomyopathie Hypertrophique familiale

Céline Ledeuil (1), Coline Macquart (1), Barbara Ludin (1), Sarah Lebreton (1), Philippe Charron (2), Pascale Richard (3)

1. Unité fonctionnelle de Cardiogénétique et Myogénétique, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France
2. AP-HP, Département de génétique, Hôpitaux Universitaires de la Pitié-Salpêtrière- Charles Foix, Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héritaires, UMRS\_1166, Equipe Génomique et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires, Université Pierre et, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France
3. AP-HP, Hôpitaux Universitaires de la Pitié-Salpêtrière- Charles Foix, UF Cardiogénétique et Myogénétique, UMRS\_1166, Equipe Génomique et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires, Université Pierre et Marie Curie, Institut de Cardio-métabolisme et N, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France

**Auteur correspondant :** Richard Pascale (pascale.richard@psl.aphp.fr)

**Introduction :** La cardiomyopathie hypertrophique (CMH) est caractérisée par une hypertrophie asymétrique des parois du ventricule gauche évoluant vers une insuffisance cardiaque et un risque de mort subite. La CMH est une maladie monogénique autosomique dominante causée par des mutations privées impliquant plus de 10 gènes. Le gène MYBPC3 codant pour la protéine C cardiaque (c.MyBPC) représente 55% des patients mutés et contient environ 400 mutations identifiées, la moitié de ces mutations étant des mutations nulles (splice, stop, ins/del). Certaines mutations introniques ou exoniques ne peuvent être exploitées cliniquement sans une analyse des transcrits. Ce travail a eu pour objectif d'évaluer l'effet de certains variants génomiques du gène MYBPC3 sur l'épissage des ARN messagers (ARNm).

**Mutations:** Dix mutations différentes du gène MYBPC3 présentes chez dix-sept patients ont été analysées; 8 variants introniques (MYBPC3 : c.407-5C>T, c.906-36G>A, c.1224-26C>G, c.1224-19G>A, c.1227-13G>A, c.2149-3C>G, c.3190+5G>A, c.3330+5G>C), une substitution synonyme (p.Val394Val) et une substitution faux sens (Arg1033Gln).

**Méthodes :** A partir des lignées lymphoblastoïdes des patients mutés, les ARN totaux ont été extraits avec le kit Qiagen® sur un extracteur EZ1. Deux approches de reverse transcription sont testées : amorces oligo dT et hexamères nucléotidiques (SuperScriptIII® Reverse Transcriptase). Les amorces d'amplification des cDNA sont définies in silico avec le logiciel LCPDS et primer 3. Les amplicons sont séquencés au moyen du BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem)

**Résultats :** Nous avons testé l'ensemble de l'ARNm du gène (3.825Kb) en 8 fragments chevauchants. Pour une application diagnostique de la méthode, des tests de reproductibilité, sensibilité et spécificité ont été réalisés.

Les variants introniques 5', c.906-36G>A, c.1224-26C>G, c.1224-19G>A, c.1227-13G>A, c.2149-3C>G, entraînent la création d'un site accepteur et la rétention de nucléotides introniques dans l'ARNm mature. Parmi les variants introniques 3', c.3190+5G>A active un site donneur dans l'exon 29 et la délétion de 7 nucléotides exoniques alors que c.3330+5G>C entraîne la délétion de l'exon 30 en totalité. Par contre, c.407-5C>T ne montre pas de conséquences. Les variants exoniques entraînent pour certains des effets sur l'épissage; p.Val394Val crée un site donneur exonique et la délétion c.1180-1223del (p.Val394Glnfs\*5), p.Arg1033Gln crée un site accepteur exonique et la délétion c.995-3099del (p.Gly999\_Arg1033del).

**Conclusion :** Cette étude montre que dans le gène MYBPC3, des mutations introniques non canoniques et des mutations faux sens ou synonymes peuvent dans certaines conditions altérer l'épissage des ARNm. L'analyse des transcrits sur lignées lymphoblastoïdes de

patients se révèle être très utile car permet de conclure à la pathogénicité de ces mutations et à une meilleure prise en charge des familles.

**Mots-clés :** Cardiomyopathies familiales, Protéine C cardiaque, Epissage

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D023/#89

### Etude clinico-génétique du syndrome de Waardenburg de type 1 et 3 : à propos d'une série tunisienne

MEDIHA TRABELSI (1), MALEK NOUIRA (2), RYM MEDDEB (3), FAOUZI MAAZOUZ (1), GHAZI BESBES (4), RIDHA MRAD (1), HABIBA CHAABOUNI (1)

1. SERVICE DES MALADIES CONGÉNITALES ET HÉRÉDITAIRES, EPS CHARLES NICOLLE, TUNIS, Tunisie
2. LABORATOIRE DE GÉNÉTIQUE, FACULTE DE MÉDECINE DE TUNIS, TUNIS, Tunisie
3. SERVICE DES MALADIES CONGÉNITALES ET HÉRÉDITAIRES, EPS CHARLES NICOLLE, TUNIS, Tunisie
4. Service ORL, HOPITAL LA RABTA, TUNIS, Tunisie

**Auteur correspondant :** TRABELSI MEDIHA (mediha\_tr@yahoo.fr)

**Introduction :**

Le syndrome de Waardenburg (WS) est une maladie oculo-dermato-auditive caractérisée par une importante variabilité clinico-génétique. Selon la présence ou non des symptômes additionnels, on définit quatre types: WS1, WS2, WS3 et WS4. Les types 1 et 3 sont essentiellement dus à des mutations au niveau du gène PAX3 alors que les types 2 et 4 sont génétiquement hétérogènes.

Le but de notre travail est de caractériser cliniquement et génétiquement, par analyse du gène PAX3, 7 patients présentant un WS de type 1 ou 3 et d'étudier la corrélation génotype-phénotype dans ce syndrome.

**Matériel et Méthodes :**

• Etude clinique et séquençage du gène PAX3 chez 6 patients de type 1 et 1 patiente de type 3.

**Résultats :**

Sur le plan clinique, nous avons noté autant de formes familiales que sporadiques avec une transmission souvent autosomique dominante. La surdité, les anomalies de pigmentation irienne et la racine du nez proéminente sont les signes cliniques les plus fréquents. Une importante hétérogénéité clinique inter et intrafamiliale a été également constatée.

L'analyse moléculaire du gène PAX3 a permis de confirmer le diagnostic chez 4 patients ayant le WS1 en révélant 3 mutations non préalablement décrites siégeant au niveau des domaines Paired et de transactivation, deux domaines indispensables au fonctionnement de la protéine. Ces mutations, ségrégent avec la maladie et n'ont pas été retrouvées chez 50 témoins.

Ces deux approches ont conclu à une absence de corrélation génotype-phénotype dans le WS, élément dont il faut tenir compte lors de l'annonce du conseil génétique.

**Conclusion :**

L'absence de mutation chez deux patients WS1 et une patiente WS3 nous laisse supposer l'implication d'autres mutations du gène PAX3 non détectées par séquençage ou d'autres gènes qui restent à identifier.

L'effet pathogène de ces 3 mutations est à confirmer par des études fonctionnelles.

**Mots-clés :** waardenburg, PAX3, corrélation génotype-phénotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D024/#94

### Diagnostic génétique de l'homocystinurie congénitale par déficit en Cystathionine beta-Synthase (CBS) : expérience du Centre de Compétence Maladies Métaboliques de Bordeaux.

#### Genetic diagnosis of CBS-linked homocystinuria : Bordeaux experience

Cécile Ged (1), Nada Houcinat (2), Emilie Lacanal (2), Leslie Carrat (2), Evelyne Faivre (2), Samir Mesli (3), Isabelle Redonnet-Vernhet (3), Hubert de Verneuil (1)  
1. Service de Biochimie/INSERM U1035, CHU de Bordeaux/Université Bordeaux-Segalen, Bordeaux, France  
2. Service de Biochimie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France  
3. Service de Biochimie/centre de Compétence Maladies Métaboliques, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Ged Cécile (cecile.ged@u-bordeaux2.fr)

L'homocystinurie liée au déficit en cystathionine beta-synthase (CbS) est caractérisée par des manifestations multi-systémiques : atteinte oculaire, squelettique, vasculaire ou du système nerveux central. Transmise sur le mode autosomique récessif, elle est due à un défaut du métabolisme de la méthionine et liée à des mutations du gène CBS. L'enzyme CbS convertit l'homocystéine (Hcy) en cystathionine par la voie de transsulfuration du cycle de la méthionine, en utilisant le phosphate de pyridoxal comme cofacteur. La vitamine B12 et l'acide folique sont également impliqués par la voie de reméthylation de la méthionine. Le diagnostic du déficit CbS repose sur le dosage des acides aminés sanguins et urinaires (incluant Hcy et homocystine), éventuellement de l'activité enzymatique et l'analyse du gène CBS.

Les manifestations typiques associent une atteinte oculaire caractéristique, subluxation du cristallin responsable de myopie sévère ; des déformations squelettiques de type marphanoïde, avec scoliose et ostéoporose ; des accidents thrombo-emboliques, principale cause de mortalité et de morbidité, affectant le réseau veineux et artériel quel que soit son calibre. Un déficit intellectuel peut se manifester précocement et s'accompagner de troubles psychiatriques. Les moyens thérapeutiques permettant de réduire l'accumulation d'homocystéine reposent sur l'administration de pyridoxine à doses pharmacologiques, d'acide folique, de vitamine B12, et de bétaïne (pour favoriser la voie de reméthylation). Associés à un régime contrôlant les apports protéiques, enrichi en cystine, ils doivent être mis en place le plus tôt possible pour prévenir les accidents vasculaires potentiellement dramatiques, limiter la dégradation intellectuelle et l'escalade des complications.

L'âge de survenue et la sévérité de la maladie sont extrêmement variables, des formes infantiles complètes aux diagnostics tardifs à l'occasion d'une manifestation vasculaire isolée. Cette diversité est largement dépendante de la réponse au traitement vitaminique et déterminée par le défaut génétique sous-jacent.

Cette étude rassemble 52 familles, référées au Centre de Compétences des Maladies Métaboliques de Bordeaux, au cours des 15 dernières années, pour l'analyse du gène CBS. Les caractéristiques des patients ont été colligées : âge au diagnostic, Hcy de base, atteinte vasculaire, oculaire, squelettique et neuropsychiatrique, réponse au traitement vitaminique et analysées en fonction de l'anomalie moléculaire sous-jacente identifiée par séquençage conventionnel du gène CBS, ou de l'ADNc si nécessaire. L'analyse met en évidence, comme attendu, 2 tableaux distincts, vasculaire pur ou polysystémique, soit 40 et 60 % des patients de cette série. L'influence du défaut génétique sur la présentation clinique sera présentée et commentée en termes de mécanismes physiopathologiques et d'options thérapeutiques.

**Mots-clefs :** diagnostic génétique, homocystinurie congénitale, relations phénotype-génotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D025/#95

### Les mutations tronquantes du gène IQSEC2 sont responsables de sévère déficience intellectuelle liée à l'X syndromique .

Frederic Tran Mau-Them (1), Marjolaine Willems (2), Beate Albrecht (3), Elodie Sanchez (4), Jacques Puechberty (4), Sabine Endeke (5), Anouck Schneider (6), Nathalie Ruiz-Pallares (7), Chantal Missirian (8), François Rivier (9), Manon Girard (6), Muriel Holder (10), Sylvie Manouvrier (10), Isabelle Toutou (6), Genevieve Lefort (6), Pierre Sarda (4), Anne Moncla (11), Severine Drunat (12), Dagmar Wieczorek (13), David Genevieve (4)

1. Genetique Medicale, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Genetique médicale, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Institut für Humangenetik, Essen Universitätsklinikum, Essen, Allemagne
4. Genetique Médicale, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
5. Human Genetisches Institut, Erlangen- Nurnberg Universitat, Erlangen, Allemagne
6. Genetique Chromosomique, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
7. Genetique Chromosomique & Moléculaire, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
8. Genetique Médicale, CHRU La Timone, Marseille, France
9. Neuropédiatrie, CHRU Gui de Chauillac, Montpellier, France
10. Genetique, CHRU Jeanne de Flandre, Lille, France
11. Neuropédiatrie, CHRU Saint Eloi, Montpellier, France
12. Genetique Moléculaire & Biochimie, CHU Robert Debré, Paris, France
13. Institut für Humangenetik, Duisburg-Essen Universitat, Essen, Allemagne

**Auteur correspondant :** Willems Marjolaine (m-willems@chu-montpellier.fr)

La déficience intellectuelle (DI) est fréquente dans la population générale, avec 1 personne sur 50 directement touchées dans le monde. Les étiologies sont multiples et comprennent entre autres celles liées à l'X (DILX). Parmi les DILX syndromiques, quelques syndromes présentent une DI sévère associée à une microcéphalie postnatale et des mouvements stéréotypés de la ligne médiane. Nous rapportons trois patients males présentant une DI, des mouvements stéréotypés de la ligne médiane, une hypotonie, une hyperkinésie, un strabisme, une épilepsie (2/3), ainsi qu'une microcéphalie non héréditaire postnatale (2/3).

Grâce à l'utilisation combinée de CGH array et de séquençage d'exome, nous avons caractérisé deux mutations tronquantes dans le gène IQSEC2, à savoir deux duplication intragénique de novo dans la région Xp11.22 et une mutation non-sens dans l'exon 7 du gène IQSEC2.

À ce jour, les mutations dans le gène IQSEC2 ont été liées à des DILX non-syndromique chez quatre familles non apparentées, avec 32 patients de sexe masculin présentant des DI caractérisées de modérées à sévères ainsi que des traits autistiques.

Nous proposons que les mutations non synonymes dans le gène IQSEC2 menant à de petites perturbations fonctionnelles de la protéine, soient responsables de DILX non syndromique, alors que des mutations tronquantes peuvent générer une perte plus grave de la fonction de la protéine codée par IQSEC2 qui pourrait expliquer les DI syndromiques sévères associées aux mouvements Rettoïde - comme observés chez les trois patients males rapportés. IQSEC2 devrait être analysé chez les patients sans mutation dans les gènes MECP2, FOXG1, CDKL5 et MEF2C.

**Mots-clefs :** Mutations tronquantes du gène IQSEC2, Déficience intellectuelle syndromique sévère, Microcéphalie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D026/#96

### Une duplication du cluster des gènes HOXD est responsable d'une dysplasie cubitale isolée dans trois familles non apparentées

Annick Toutain (1), Olivier Pichon (2), Annaïg Briand (2), Marta Sanchez-Castro (3), André Mégarbané (4), Benoît De Courtivron (5), Christian Bonnard (6), Jean-Pierre Fryns (7), Cédric Le Caignec (2)

1. Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France
2. Service de Génétique, CHU, Nantes, France
3. INSERM, UMR\_S1087, Institut du Thorax, Nantes, France
4. Unité de Génétique Médicale, Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban
5. Service Orthopédie Pédiatrique, CHU Clocheville, Tours, France
6. Service d'Orthopédie Pédiatrique, CHU Clocheville, Tours, France
7. Center for Human Genetics, University Hospital, Leuven, Belgique

**Auteur correspondant :** Toutain Annick (annick.toutain@univ-tours.fr)

Les dysplasies osseuses mésoméliques constituent un groupe hétérogène de dysplasies squelettiques parmi lesquelles la dysplasie de type Kantaputra a récemment émergé comme une entité autonome. Elle est caractérisée par une brièveté mésomélique marquée des membres supérieurs et inférieurs associée à une atteinte du pied avec une synostose du tarse. Un déséquilibre génomique complexe d'environ 1 Mb constitué de deux microduplications distinctes de 481 et 507 kb sur le chromosome 2q31.1-q31.2 a été identifié dans la famille thaïlandaise décrite par Kantaputra et al. La duplication centromérique inclut le cluster des gènes HOXD. Simultanément, Cho et al. ont rapporté une duplication de 1 Mb du cluster HOXD dans une famille avec une dysplasie mésomélique similaire des membres supérieurs mais une atteinte discrète des membres inférieurs et avec des anomalies digitales. L'atteinte mésomélique dans ces deux familles est très similaire à celle d'un mutant murin radio-induit, *Ulnaless* (UI), qui porte une inversion avec un point de cassure localisé dans le complexe HOXD.

Nous rapportons l'observation d'une fillette et de son père atteints d'une dysplasie mésomélique limitée aux membres supérieurs et touchant principalement le cubitus. Le même phénotype a déjà été décrit en 1988 par Fryns et al. et en 2005 par Mégarbané et al., chaque fois chez un enfant et son père. Dans ces trois familles les patients ont une brièveté et une incurvation marquées des avant-bras avec une déviation cubitale des mains résultant d'un défaut de développement sévère du cubitus, sans atteinte des membres inférieurs. Ces trois familles suggèrent l'existence d'une entité séparée autosomique dominante consistant en une dysplasie mésomélique limitée aux membres supérieurs. Une étude en CGH-array nous a permis d'identifier dans chacune de ces trois familles une duplication de la région 2q31.1 de taille variable, de 200 kb à 1 Mb, incluant le complexe des gènes HOXD.

Ces résultats montrent qu'une duplication du cluster HOXD peut conduire soit à une dysplasie de Kantaputra soit à une dysplasie cubitale isolée, mais l'origine précise de cette variabilité d'atteinte squelettique reste méconnue. Par ailleurs, aucune duplication de HOXD n'a été détectée dans deux autres familles avec dysplasie de Kantaputra, tandis que deux grandes duplications de la région chromosomique englobant le cluster HOXD sans dysplasie mésomélique associée ont été publiées. Ceci montre que cette anomalie squelettique ne résulte pas d'un effet de dosage génique, mais plus probablement, comme chez le mutant *Ulnaless*, d'une anomalie de régulation de l'expression spatio-temporelle des gènes HOXD au cours du développement, causée par la survenue de points de cassure de réarrangements qui interfèrent avec les éléments régulateurs du complexe HOXD localisés dans la région. Des études sont en cours pour essayer d'en préciser le mécanisme.

**Mots-clés :** Dysplasie cubitale, Duplication, Complexe des gènes HOXD

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D027/#98

### Phénotypes atypiques associés au gène WFS1 au sein d'une cohorte de 94 patients

Annabelle Chaussenot (1), Morgane Plutino (1), Cécile Rouzier (1), Samira Ait-El-Mkadem-Saadi (1), Magali Barth (2), Perrine Charles (3), Bernard Vialettes (4), Véronique Paquis-Flucklinger (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, NICE, France
2. Département de biochimie et génétique, CHU Angers, ANGERS, France
3. Service de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
4. Endocrinologie et Maladies métabolique, Hôpital Timone, MARSEILLE, France

**Auteur correspondant :** Chaussenot Annabelle (annabelle.chaussenot@laposte.net)

Le gène WFS1 est principalement impliqué dans le syndrome de Wolfram (WS), une maladie neurodégénérative autosomique récessive, et dans une forme dominante de surdité prédominant sur les basses fréquences appelée Low Frequency Sensory/Neural Hearing Loss (LFSNHL). Les critères diagnostiques minimaux du WS sont la survenue d'un diabète sucré (ou Diabète mellitus, DM) et d'une atrophie optique (AO) avant l'âge de 15 ans, auxquels sont souvent associés un diabète insipide (DI), une surdité, des anomalies des voies rénales ou des signes neuropsychiatriques. Récemment, des mutations dans le gène WFS1 ont également été décrites dans des formes dominantes d'AO associée à une surdité neurosensorielle. Au sein de notre cohorte de 94 patients (73 familles) avec 1 ou 2 mutation(s) dans WFS1, nous rapportons 20 cas issus de 16 familles ayant une présentation clinique inhabituelle. Parmi les formes récessives, 11 patients avaient développé un DM et une AO après 15 ans correspondant à un syndrome de Wolfram tardif (Late-Onset Wolfram Syndrome : LOWS). Les LOWS représentaient 13,9% de notre cohorte de patients WS, soit plus du double de ce qui a été précédemment rapporté dans une récente revue de la littérature portant sur 396 patients WS (6,1%). Certaines mutations semblaient récurrentes et pourraient avoir une valeur prédictive de LOWS. Par ailleurs, 2 patients adultes d'une fratrie présentaient une AO débutant dans l'enfance associée à des troubles neurologiques à l'âge adulte sans DM. Une mutation récessive connue a également été retrouvée à l'état hétérozygote chez un patient âgé de 20 ans ayant développé un tableau complexe incluant un DM et une surdité à l'âge de 1 an. Enfin, parmi les patients porteurs d'une mutation dominante dans WFS1, 6 patients issus de 4 familles présentaient une surdité neurosensorielle associée à une AO et/ou un DM. Le spectre phénotypique lié à WFS1 n'est donc pas limité au WS débutant avant 15ans et au LFSNHL. Notre étude souligne la fréquence des LOWS et des formes dominantes liées à WFS1, probablement sous-diagnostiquées, et montre l'implication de WFS1 dans les formes AO « plus » récessives. En conclusion, WFS1 devrait être analysé en présence d'une AO et/ou d'une surdité neurosensorielle inexplicables (après avoir éliminé les causes génétiques plus fréquentes) quelque soit les signes associés (DM, neurologiques...), l'âge de début et le mode de transmission.

**Mots-clés :** WFS1 gene, Syndrome de Wolfram, Atrophie optique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D028/#102

### Etude de génétique moléculaire du gène NPHS1 dans 6 familles tunisiennes atteintes d'un syndrome néphrotique congénital type finlandais

Marwa Trabelsi (1), Olfa Naija (2), Madiha Trabelsi (3), Rim Meddeb (4), hana Safraou (5), Faouzi Maazoul (6), Taher Gargah (7), Habiba Chaabouni-Bouhamed (8), Ridha Mrad (3)

1. Laboratoire de génétique, Faculté de médecine de Tunis-Université Tunis el Manar, Tunis, Tunisie
2. Service de Pédiatrie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
4. 1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
5. 1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
6. service des maladies congénitales et héréditaires, Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
7. Service de Pédiatrie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
8. service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Mrad Ridha (rmdr@yahoo.com)

Le syndrome néphrotique congénital type finlandais est une néphropathie héréditaire grave, autosomique récessive, secondaire à une mutation à l'état homozygote du gène NPHS1. Ce dernier code pour la néphrine qui est un composant du diaphragme de fente du rein humain. Il a une incidence élevée dans la population finlandaise où deux mutations ancestrales ont été décrites. Actuellement au moins 140 mutations différentes sont rapportées dans la littérature et concernant différents groupes ethniques.

Le but de notre travail est la détermination du spectre mutationnel du gène NPHS1 codant pour la néphrine, dans 6 familles tunisiennes de syndrome néphrotique congénital type finlandais.

Le séquençage systématique des différents exons et des jonctions intron-exon du gène NPHS1 a permis de retrouver 5 mutations différentes dans 5 familles non apparentées, à l'état homozygote chez les 2 cas index et /ou à l'état hétérozygote chez les parents des cas index décédés. Dans une famille où le cas index est décédé, la mère était porteuse d'une mutation à l'état hétérozygote alors que le père ne portait que 2 SNP correspondant à des mutations silencieuses. Toutes les mutations pathologiques retrouvées étaient localisées dans des exons codants pour les motifs Ig 3,4,5 et 8.

Ces résultats ont un impact important aussi bien pour la prise en charge thérapeutique, que pour la prévention par le conseil génétique et le diagnostic anténatal.

**Mots-clés :** Syndrome Néphrotique Congénital, NPHS1, Séquençage

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D029/#106

### Association agammaglobulinémie de Bruton et syndrome de Mohr-Tranebjaerg : un syndrome de gènes contigus rare lié à une délétion des gènes BTK et TIMM8A.

Edouard Cottereau (1), Agathe Paubel (1), Sandrine Vonwill (1), Nicolas Chassaing (2), Marie-Anne Barthez (3), Soizick Pondaven (4), Cyrille Hoarau (5), Annick Toutain (1)

1. Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France
2. Service de Génétique, CHU, Toulouse, France
3. Service de Neuropédiatrie, CHU Clocheville, Tours, France
4. Service d'ORL Pédiatrique, CHU Clocheville, Tours, France
5. Service d'Immunologie Clinique, CHU Bretonneau, Tours, France

**Auteur correspondant :** Toutain Annick (annick.toutain@univ-tours.fr)

L'agammaglobulinémie de Bruton ou agammaglobulinémie liée à l'X (ALX) est une maladie génétique du système immunitaire responsable chez les garçons d'infections bactériennes récurrentes. Elle est liée à des mutations du gène BTK, localisé en Xq21.1, qui entraînent une diminution majeure du taux de lymphocytes B. Le syndrome de Mohr-Tranebjaerg (SMT) ou syndrome surdité-dystonie est une maladie neurodégénérative rare (une cinquantaine de cas répertoriés dans la littérature) caractérisée par une surdité neurosensorielle, une dystonie progressive et des troubles visuels. Il est dû à des mutations du gène TIMM8A localisé à proximité et en 3' du gène BTK.

Nous rapportons le cas d'un patient atteint d'ALX diagnostiquée à 6 mois et traitée par injections régulières d'immunoglobulines, chez qui une délétion des 9 derniers exons du gène BTK avait été mise en évidence par technique de MLPA. Il a ensuite présenté un retard de langage et une surdité bilatérale sévère évolutive a été diagnostiquée vers l'âge de 5 ans, nécessitant la pose d'un implant cochléaire à 9 ans. Au cours de la 9e année, des difficultés motrices dans les gestes de la vie courante et dans l'écriture ont conduit au diagnostic de dystonie du membre supérieur gauche. Cette association a fait évoquer un syndrome de gènes contigus, lié à la délétion du gène TIMM8A et d'une partie du gène BTK. Ce diagnostic a été confirmé par étude en CGH-array (puce Agilent 180K) qui a mis en évidence une délétion de 9,96 kb englobant la partie 3' de BTK et TIMM8A.

Ce syndrome de gènes contigus associant ALX et SMT a été rapporté dans la littérature chez 16 patients de 13 familles. Il est dû à des délétions de la région Xq22 allant de 20 à 196 kb, favorisées par l'existence de séquences Alu, qui causent dans tous les cas une rupture du gène BTK et emportent sa partie 3', le gène TIMM8A et parfois les gènes DRP2 et TAF7L situés en aval.

Cette observation illustre l'importance, en cas de diagnostic d'ALX liée à une délétion mono- ou multi-exonique touchant le dernier exon du gène BTK, de rechercher par une méthode adéquate ce syndrome de gènes contigus associant un SMT qui vient modifier le pronostic. De manière générale, elle illustre la nécessité de faire preuve de prudence dans toutes les situations de maladies génétiques liées à des délétions des premier(s) et/ou dernier(s) exon(s) d'un gène détectées par analyse ciblée. En effet, les techniques classiquement utilisées pour la recherche de réarrangements intragéniques (PCR/séquençage, MLPA, QMPSF ...) ne permettent pas d'en borner les points de cassure lorsqu'ils dépassent les limites du gène. L'analyse minutieuse de la littérature et des données de cartographie du génome, et la mise en œuvre d'analyses complémentaires, notamment pour les gènes qui sont connus pour être impliqués dans des syndromes microdélétionnels, est alors indispensable de façon à proposer au patient une prise en charge adaptée et à sa famille un conseil génétique approprié.

**Mots-clés :** agammaglobulinémie de Bruton, syndrome de Mohr-Tranebjaerg, délétion des gènes BTK et TIMM8A



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D030/#107

### Syndrome des ptérygius poplités chez un nourrisson marocain: description clinique et identification de la mutation p.Arg84Cys du gène IRF6

Ilham Ratbi (1), Nawfal Fejjal (2), Marie Legendre (3), Nathalie Collot (3), Serge Amselem (3), Abdelaziz Sefiani (4)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
2. Service de chirurgie plastique pédiatrique, Hôpital d'enfants, rabat, Maroc
3. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
4. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** Ratbi Ilham (i.ratbi@um5s.net.ma)

Le syndrome des ptérygius poplités (SPP) est un syndrome polymalformatif de la face et des membres de transmission autosomique dominante. Sa prévalence est estimée à 1/300 000. Il se caractérise classiquement par l'association d'une fente palatine ou labio-palatine, des pits paramédians de la lèvre inférieure, et une bride cutanée généralement bilatérale située dans la région postérieure des membres inférieurs et s'étendant de l'ischion au talon. D'autres anomalies maxillofaciales à type de syngnathie et de synéchies orales, des anomalies génitales et des anomalies des membres en particulier des syndactylies peuvent être présentes. Le SPP est lié à des mutations du gène IRF6 en 1q32.2. Il code pour un facteur de transcription possédant un domaine HLH (helix-loop-helix) de fixation à l'ADN et un domaine de liaison protéique SMIR (smad interferon regulatory factor-binding domain). Les mutations de PPS se trouvent presque exclusivement dans le domaine de liaison à l'ADN, et concernent des acides aminés essentiels à la fixation à l'ADN en particulier la substitution Arg84 par une cystéine ou une histidine car seule l'arginine est capable de former un pont hydrogène avec la guanine de la séquence reconnue sur l'ADN.

Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de deux mois qui présente une fente labio-palatine avec des fistules et des synéchies labiales, un ptérygium poplité droit, une syndactylie bilatérale des 4ème et 5ème orteils, un phimosis, des taches achromiques au niveau du visage et un hamartome verruqueux de la plante des pieds. L'étude moléculaire du gène IRF6 a identifié chez lui la mutation p.Arg84Cys à l'état hétérozygote. Cette mutation n'a pas été retrouvée chez ses deux parents.

La confirmation du diagnostic de PPS chez ce patient nous a permis d'adapter sa prise en charge médicale et de prodiguer un conseil génétique à ses parents.

**Mots-clefs :** ptérygium poplité, fente labio-palatine, gène IRF6

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D031/#111

### Séquence de Pierre Robin et Otx2 : à propos d'un cas

Samia Melaabi, Ghislaine Plessis  
Service de cytogénétique, CHU, Caen, France

**Auteur correspondant :** Melaabi Samia (mel.samia@gmail.com)

**Introduction :** La séquence de Pierre Robin (SPR), dont la fréquence est de 1 nouveau-né sur 8 000 à 10 000, est une malformation touchant la partie inférieure du visage. Elle correspond, embryologiquement, à un rétrognathisme entraînant une glossoptose (langue restant en arrière, en position verticale) qui empêche la fermeture du palais (fente vélo-palatine postérieure). Otx2 est un gène homéotique essentiel au développement embryonnaire de la partie supérieure de la face. Il intervient sur la formation de la vésicule optique, la maturation des cellules bipolaires et des photorécepteurs et le développement pituitaire. Ici, nous décrivons le cas d'un nouveau-né avec une SPR et délétion du gène Otx2 détectée par CGH-array.

**Observation :** La grossesse est sans particularité. À la naissance, le nouveau-né est eutrophique et présente une SPR. Les difficultés alimentaires liées à la SPR nécessitent son hospitalisation dans un service de néonatalogie pendant 9 jours. L'examen clinique montre un épicanthus, un ptosis sévère bilatéral nécessitant une chirurgie, un angiome plan du cuir chevelu et des paupières, une bouche en chapeau de gendarme et une hyperlaxité ligamentaire. Les examens génétiques ont été réalisés à 5 mois de vie. Le caryotype est sans anomalie, il n'y a pas de délétion 22q11.2 en FISH ; mais, la CGH-array a révélé une délétion 14q23.1 de 1.6-1.7 Mb emportant le gène Otx2. Cette mutation est de novo puisqu'elle n'a pas été détectée chez les parents. À l'âge de 2 ans, l'examen clinique retrouve une otite séreuse bilatérale bien tolérée, sans gêne fonctionnelle. La prise en charge par pose d'aérateur transtympanique a permis l'amélioration des troubles du langage.

**Discussion :** La SPR peut être isolée ou appartenir à un cadre syndromique important à reconnaître car, dans ce dernier cas, les difficultés d'alimentation et de ventilation semblent nécessiter une prise en charge plus « agressive ». Ici, le ptosis est un signe très évocateur d'une atteinte syndromique concordant avec une délétion d'Otx2. L'otite séreuse et l'hyperlaxité ligamentaire peuvent être liées à la délétion 14q22. Otx2 a surtout été décrit responsable d'anomalies de la partie haute de la face : microphthalmie, dystrophie rétinienne de survenue précoce ou déficit en PTH. Chez la souris, les mutations hétérozygotes de ce gène sont à l'origine d'otocéphalie ou d'agnathie - holoprosencéphalie. Néanmoins, chez certaines souches de souris Otx2 knock-out, on constate, une diminution, voire une absence mandibulaire peut-être en lien avec 2 loci, Otmf18 et Otmf2, dont une approche génome entier a mis en évidence une liaison avec le phénotype mandibulaire anormal (LOD score > 3).

**Conclusion :** La recherche d'une origine génétique de SPR s'intégrant dans un cadre syndromique doit être précoce pour une prise en charge adaptée de la SPR et afin de détecter des anomalies pouvant être à l'origine d'un retard de développement. Il semblerait qu'Otx2 seul n'expliquerait pas la SPR.

**Mots-clefs :** Séquence Pierre Robin, Otx2, Otmf

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D032/#123

### Les déficits primaires ou secondaires en coenzyme Q10 peuvent être associés à un autre défaut de la chaîne respiratoire mitochondriale

Konstantina Fragaki (1), Annabelle Chaussenot (1), Jean-François Benoist (2), Samira Ait-El-Mkadem (1), Abdelhamid Slama (3), Charlotte Cochaud (1), Christian Richelme (4), Sabrina Sacconi (5), Jean Pouget (6), Brigitte Chabrol (7), Véronique Paquis-Fluckinger (1)

1. Service de Génétique Moléculaire, CHU de Nice, Nice, France
2. Service de Biochimie-Hormonologie, CHU de Paris-Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Laboratoire de Biochimie, CHU de Bicêtre, Paris, France
4. Service de Pédiatrie-Neuropédiatrie, CHU de Nice, Nice, France
5. Service de Médecine Physique et Réadaptation, CHU de Nice, Nice, France
6. Service de Neurologie et Maladies Neuro-Musculaires, CHU de Marseille-Hôpital de la Timone, Marseille, France
7. Service de Neurologie Pédiatrique, CHU de Marseille-Hôpital de la Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Fragaki Konstantina (k.fragaki@laposte.net)

Le coenzyme Q10 (CoQ10 ou ubiquinone) est un transporteur mobile d'électrons qui assure leur transfert depuis les complexes I et II vers le complexe III de la chaîne respiratoire mitochondriale (CRM), participant à la production d'énergie sous forme d'ATP.

Le spectre phénotypique associé au défaut en CoQ10 est large : encéphalomyopathie, atteinte multisystémique, ataxie, myopathie, syndrome néphrotique... L'identification de mutations dans plusieurs gènes de la voie de biosynthèse du CoQ10 a permis de distinguer les atteintes primaires et les atteintes secondaires, liées à des mutations dans des gènes indépendants de cette voie.

Le déficit en CoQ10 est le seul désordre de la phosphorylation oxydative qui peut dans certains cas répondre favorablement à un traitement substitutif, ce qui rend le diagnostic extrêmement important. Celui-ci est essentiellement effectué par analyse spectrophotométrique de la CRM. Il est largement rapporté dans la littérature que chez les patients atteints, les activités des différentes enzymes de la CRM (complexes I, II, III, IV et V) mesurées indépendamment sont normales en revanche les activités quinone-dépendantes (segments I + III ou G3P+III et II + III) sont réduites. L'hypothèse d'un défaut en CoQ10 peut être corroborée par la stimulation de l'activité du segment II+III par ajout d'ubiquinone exogène. La preuve directe de la carence en ubiquinone est donnée par quantification du CoQ10 dans les tissus par HPLC.

Nous avons recherché la présence de défauts quantitatifs en CoQ10 par HPLC, dans une cohorte de patients présentant sur biopsie musculaire ou fibroblastes, un défaut des activités quinone-dépendantes associé à un défaut d'une ou plusieurs enzymes de la CRM. 18 patients ont été inclus dans cette étude : 1 présentant un défaut primaire en CoQ10 (mutation CoQ2), 2 avec une pathologie mitochondriale associée à une mutation de l'ADNmt (1 délétion commune et 1 mutation CytB), 3 avec une pathologie mitochondriale associée à une mutation dans un gène nucléaire (2 mutations POLG et 1 mutation SUCLG1), 4 avec une pathologie non mitochondriale (1 mutation ETFDH, 1 mutation TBC1D24, 1 mutation SRD5A3-CDG et 1 délétion 1p36) et 8 avec une atteinte histologique ou enzymatique évocatrice d'une maladie mitochondriale mais sans mutation identifiée. Parmi ces 18 patients, 8 (soit 45%) ont présenté un défaut quantitatif en CoQ10 : 1 avec un défaut primaire en CoQ10, 3 avec une pathologie mitochondriale associée à une mutation, 1 avec une pathologie non mitochondriale et 3 avec une atteinte évocatrice d'une maladie mitochondriale sans mutation identifiée. La fréquence des défauts en CoQ10 est donc supérieure à celle estimée. Nous soulignons l'importance d'analyser par HPLC tout tissu présentant un défaut des activités quinone-dépendantes associée ou non à un défaut d'une ou plusieurs enzymes de la CRM, afin de permettre une prise en charge thérapeutique rapide des patients atteints et d'orienter les analyses génétiques.

**Mots-clés :** maladies mitochondriales, déficit en coenzyme Q10, déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D033/#127

### Etude moléculaire du syndrome de Smith-Lemli-Opitz : à propos d'un patient Tunisien.

Houweyda Jilani (1), Syrine Hizem (1), Ons Azzabi (2), Lamia Hila (3), Christine Saban (4), Fabienne Dufermez (5), Ahmed Meherzi (2), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La Marsa, Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie, Hôpital Mongi Slim, La Marsa, Tunis, Tunisie
3. Laboratoire de génétique, Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire des maladies héréditaires du métabolisme, Centre de biologie et pathologie EST, Bron, France
5. Service de Biochimie B, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

**Auteur correspondant :** Ben Jemaa Lamia (benjemaal@yahoo.com)

Le syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLOS) est un syndrome malformatif transmis selon le mode autosomique récessif, dû à un déficit en 7-déhydrocholestérol réductase (7DHCR). La 7DHCR est une enzyme codée par le gène DHCR7 responsable de la transformation du 7-déhydrocholestérol en cholestérol.

Cette affection a une incidence estimée à 1/20.000 à 1/40.000 naissances. Elle est caractérisée par l'association de troubles du comportement au syndrome malformatif. Les signes les plus fréquents sont le retard de croissance à début intra-utérin, la dysmorphie faciale, les malformations congénitales essentiellement cérébrales et génitales, et la syndactylie des 2ème et 3ème orteils retrouvée dans 95% des cas.

Nous rapportons le cas d'un enfant atteint du SLOS confirmé par une élévation du 7-déhydrocholestérol et par l'étude moléculaire du gène DHCR7.

Il s'agit d'un nouveau-né de sexe masculin âgé de 18 jours issu de parents non apparentés. La grossesse était bien suivie, l'échographie morphologique était sans anomalies, en particulier absence de retard de croissance intra-utérin. A la naissance l'enfant était eutrope, à l'examen on retrouve un faciès aplati, un front fuyant, un œdème palpébral, un hypertélorisme, une racine du nez large avec une pointe bulbuse et des narines antéversées, une fente palatine et un rétrognatisme. Il avait une anomalie des extrémités à type de syndactylie bilatérale des 2ème et 3ème orteils, une implantation proximale des pouces. Les organes génitaux externes étaient ambigus avec des bourses hypoplasiques, un micropénis et des testicules ectopiques.

Les différents examens complémentaires ont montré un caryotype 46,XY, un rein gauche pelvien et une hypertrophie du pylore à l'échographie abdominale, l'absence de malformations cérébrales et cardiaques.

Le diagnostic de SLOS étant fortement suspecté devant l'association ambiguïté sexuelle et syndactylie des 2ème et 3ème orteils, le dosage plasmatique a trouvé une élévation majeure du 7-déhydrocholestérol associée à une diminution du cholestérol. L'étude du gène DHCR7 trouve deux mutations décrites à l'état hétérozygote : c.278C>T (faux-sens) sur l'exon 4 et c.452G>A (non-sens) sur l'exon 6. L'analyse du polymorphisme génétique de l'Apolipoprotéine E – qui peut moduler l'expression du gène DHCR7 – trouve la forme normale E3 qui n'a pas d'effet sur le syndrome malformatif.

Le SLOS est une maladie ayant un tableau clinique hétérogène, variable selon l'âge. Le diagnostic peut être suspecté en période néonatale devant des signes minimes tels que la syndactylie et ceci même en absence d'un retard de croissance intra-utérin. La confirmation du diagnostic clinique et biochimique par l'étude moléculaire permet de donner un conseil génétique adéquat et de programmer un diagnostic prénatal lors des prochaines grossesses.

**Mots-clés :** Syndrome de Smith-Lemli-Opitz, malformations congénitales, déficit en 7-déhydrocholestérol réductase

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D034/#132

### Etude de génétique moléculaire du gène NPHS2 dans un échantillon de 12 familles tunisiennes atteintes d'un syndrome néphrotique cortico résistant

Nedra Arfaoui (1), Olfa Naija (2), Madiha Trabelsi (3), hana Safrrou (4), Rim Meddeb (5), Faouzi Maazoul (6), Taher Gargah (7), Fatma Ben Moussa (8), Adel Kheder (9), Habiba Chaabouni-Bouhamed (10), Ridha Mrad (3)

- laboratoire de génétique, faculté de médecine de Tunis-Université Tunis el manar, Tunis, Tunisie
- Service de Pédiatrie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
- Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
- service des maladies congénitales et héréditaires, Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
- Service de Pédiatrie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
- service de néphrologie, Hôpital LaRabta, Tunis, Tunisie
- service de néphrologie et de médecine interne, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
- service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Mrad Ridha (rmrad@yahoo.com)

Le syndrome néphrotique cortico-résistant est une des causes les plus fréquentes d'insuffisance rénale terminale survenant au cours des deux premières décades de la vie. Différents gènes ont été impliqués dans la genèse de cette pathologie à savoir NPHS1, NPHS2, WT, PLCE1, LAMB2.

Le but de notre travail est la détermination du spectre mutationnel du gène NPHS2 codant pour la podocine, dans 12 familles tunisiennes ayant au moins un sujet atteint de syndrome néphrotique cortico-résistant.

Nous avons réalisé le séquençage systématique du gène NPHS2 chez 14 patients.

3 différentes mutations ont été détectées dans 3 familles différentes dont une mutation est rapportée pour la première fois dans la littérature.

La fréquence estimée de l'implication du gène NPHS2 dans notre échantillon est de 25% au moins.

Ces résultats ont un impact important aussi bien pour la prise en charge thérapeutique, que pour la prévention par le conseil génétique et le diagnostic anténatal.

**Mots-clefs :** NPHS2, syndrome néphrotique, tunisie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D035/#137

### Redéfinition du concept de syndrome des gènes contigus à l'ère du séquençage haut-débit

Maéva LANGOUET (1), Karine SIQUIER-PERNET (1), Sylvia SANQUER (2), Christine BOLE-FEYSOT (3), Patrick NITSCHKE (4), Arnold MUNNICH (1), Robert BAROUKI (2), Jeanne AMIEL (1), Laurence COLLEAUX (1)

- INSERM U781, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France
- Service de Biochimie Métabolique et Protéomique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
- Plateforme de Génomique de la Fondation Imagine, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France
- Plateforme de Bioinformatique, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Langouët Maéva (maeva.langouet@inserm.fr)

Nous rapportons l'étude par séquençage d'exome d'une famille consanguine marocaine dont les deux enfants, un garçon et une fille, présentent l'association d'un retard psychomoteur avec déficit intellectuel, d'une spasticité, d'une agénésie partielle du corps calleux et d'une obésité morbide avant un an. Ce travail a permis d'identifier deux substitutions homozygotes coségrégant avec le phénotype localisées en 7q22.1 et distantes de 170 kb.

Le premier variant (c.1137+1G>T), déjà décrit dans une autre famille marocaine, touche un site donneur d'épissage du gène AP4M1 codant la sous unité mu du complexe AP4. Cette mutation est responsable du syndrome AP4, caractérisé par une encéphalopathie sévère avec spasticité, microcéphalie et petite taille. Un corps calleux fin et des anomalies de la substance blanche ont été rapportés. Cette mutation rend donc parfaitement compte du tableau neurologique observé chez les patients. En revanche, aucun des 20 patients rapportés et présentant un syndrome AP4 ne souffre d'obésité.

La seconde variation (c.595A>T, p.Asn199Tyr) est localisée dans le gène AZGP1 codant la zinc-alpha2-glycoprotéine (ZAG). Cette adipokine sécrétée par les tissus adipeux stimule la dégradation des lipides par les adipocytes et joue un rôle majeur dans la mobilisation du stock de lipides. Les sujets obèses présentent une diminution de la concentration plasmatique de ZAG ainsi qu'une réduction de l'expression de ZAG dans les tissus adipeux et le foie. De même, la concentration plasmatique de ZAG est abaissée chez les souris ob/ob, tandis que celles invalidées pour Azgp1 présentent un surpoids et une diminution de la lipolyse adipocytaire. Enfin, l'administration de ZAG humain à des souris ob/ob induit une perte de poids.

Nous proposons donc que le phénotype observé chez nos patients soit la conséquence de l'effet additionnel de l'inactivation du gène AP4M1, responsable des signes neurologiques, et d'une mutation de la protéine mutante ZAG, responsable de l'obésité. Des analyses sont en cours pour évaluer les capacités de la protéine ZAG mutée p.Asn199Tyr à induire la lipolyse adipocytaire.

La notion de syndrome des gènes contigus a été proposée en 1986 pour rendre compte d'associations cliniques liées à l'haploinsuffisance de plusieurs gènes contenus dans le fragment aneusomique. Le séquençage haut-débit permet d'élargir ce concept à celui de la transmission simultanée d'événements mutationnels indépendants mais génétiquement liés ce qui le distingue du digénisme.

**Mots-clefs :** Syndrome des gènes contigus, exome, Déficience intellectuelle, syndrome AP4 et obésité précoce

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D036/#139

### Duplication intragénique homozygote du gène TRAPPC9 identifiée par ACPA : du diagnostic postnatal à l'application au diagnostic prénatal.

Christine COUBES (1), Anouck SCHNEIDER (2), Agathe ROUBERTIE (3), Nathalie RUIZ-PALLARES (2), Mélanie DI NICOLA (2), Bruno DUMONT (4), Magali TOURNAIRE (2), Manon GIRARD (2), Mouna BARAT (4), Patricia BLANCHET (1), Vincent GATINOIS (2), Emmanuelle HAQUET (1), Franck PELLESTOR (2), Lucile PINSON (1), Sylvie TAVIAUX (2), Marjolaine WILLEMS (1), Pierre SARDA (1), David GENEVIEVE (1), Geneviève LEFORT (2), Jacques PUECHBERTY (1)

1. Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Département de Neuropédiatrie, Hôpital Gui-de-Chauliac, Montpellier, France
4. Laboratoire des Maladies Rares et Auto-inflammatoires, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** COUBES Christine (c-coubes@chu-montpellier.fr)

La déficience intellectuelle est un problème de santé publique concernant 1 à 3% des enfants. La déficience intellectuelle est cliniquement et génétiquement hétérogène et elle est classiquement sub-divisée en forme syndromique, quand elle est associée à d'autres manifestations cliniques, et non-syndromique, quand elle est isolée.

Nous rapportons le cas d'un enfant de sexe féminin âgée de 5 ans et 9 mois, première née de parents cousins germains après une grossesse sans événement particulier, adressée dans notre Centre de Référence pour bilan d'une déficience intellectuelle. Cliniquement, elle présentait un retard psychomoteur (marche à 2,5 ans), une déficience intellectuelle avec une quasi-absence de langage, des troubles du comportement (hyperactivité, stéréotypies, troubles du sommeil), une microcéphalie postnatale et une spasticité des membres inférieurs. L'IRM cérébrale a mis en évidence une hypoplasie du corps calleux et du vermis cérébelleux et une leucopathie bilatérale symétrique modérée. L'analyse chromosomique sur puce à ADN (Cytoscan HD, Affymetrix) a révélé la présence d'une triplication de 115,54 kb d'une partie du gène TRAPPC9 dans la région chromosomique 8q24.3. Cette triplication a été confirmée par qPCR qui a retrouvé 4 copies de ce réarrangement chez l'enfant, de même que l'existence d'une duplication de cette même région à l'état hétérozygote chez chacun des deux parents. Cette analyse a permis de conclure que l'enfant était homozygote pour une duplication de TRAPPC9 liée à la consanguinité.

Le gène TRAPPC9 code pour une protéine impliquée dans le transport vésiculaire intracytoplasmique avec une large expression tissulaire. Des mutations du gène TRAPPC9 ont été rapportées chez des patients porteurs d'une déficience intellectuelle non-syndromique dans des familles consanguines et présentant une clinique semblable à celle de notre patiente. Ces mutations pourraient constituer une cause fréquente de déficience intellectuelle autosomique récessive quand elle est associée à une microcéphalie postnatale, des troubles du comportement et des anomalies cérébrales (corps calleux, vermis, leucopathie). Alors que des mutations ponctuelles ont souvent été publiées, il s'agit, à notre connaissance, de la seconde description d'un micro-réarrangement intéressant le gène TRAPPC9, qui serait responsable d'une déficience intellectuelle autosomique récessive (le premier cas décrit est une microdélétion homozygote de la région chromosomique 8q24.3). Nous avons fait une revue de la littérature, afin d'essayer de définir un phénotype spécifique suggérant une atteinte du gène TRAPPC9.

Pour une nouvelle grossesse, les parents ont demandé un diagnostic prénatal, dont le principe a été accepté par le Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal régional. Ce diagnostic a mis en œuvre trois techniques (ACPA, haplotypage, qPCR) et le résultat a montré que le fœtus était sain (ni homozygote, ni hétérozygote pour la duplication).

**Mots-clés :** Déficience intellectuelle, duplication homozygote, TRAPPC9

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D037/#141

### Détermination par une méthode de PCR quantitative du nombre de copie de l'allèle normal chez les patients atteints de sclérose latérale amyotrophique et/ou de démence fronto-temporale sans expansion d'hexanucléotide GGGGCC du gène C9ORF72

Fabienne CLOT (1), Kathy LARCHER (1), Gaëlle-Anne THILLAYE (1), Eric LE GUERN (1), Cécile CAZENEUVE (1)

1. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, PARIS, France

**Auteur correspondant :** CAZENEUVE Cécile (cecile.cazeneuve@ppl.aphp.fr)

La découverte de l'implication du gène C9ORF72 dans les formes familiales et sporadiques de sclérose latérale amyotrophique et/ou de dégénérescence lobaire fronto-temporale en a bouleversé le diagnostic moléculaire en raison de la grande fréquence de la mutation dans ces affections. La nature cette mutation, une répétition d'hexanucléotides GGGGCC dont le nombre, sur les allèles pathologiques, est supérieur à 30 et peut atteindre plusieurs milliers, nécessite d'utiliser une technique de recherche de grande expansion : repeat primed PCR (RPP) ou Southern blot (SB). La plupart des laboratoires proposant ce diagnostic ont choisi la RPP, à la fois pour des raisons pratiques (la RPP peut être réalisée en un temps court) que techniques, les méthodes publiées de SB ne permettant pas d'obtenir des résultats utilisables en pratique diagnostique. Toutefois, la limite de détection de la RPP n'est, à ce jour, pas connue ce qui posait le problème de l'interprétation d'un résultat de RPP montrant la présence d'un seul allèle de taille normale et une absence des pics objectivant la présence d'une grande expansion. Ce problème diagnostique concernant environ 30% des patients testés, il était nécessaire de pouvoir y répondre par une technique simple et rapide.

Nous avons donc mis au point une PCR quantitative permettant de doser les allèles de taille normale. Le gène C9ORF72 est co-amplifié avec le gène de l'albumine dans des conditions quantitatives et en utilisant le 7-deaza-GTP ; les produits de PCR sont déposés sur un séquenceur capillaire et les résultats bruts analysés sur Genemapper. Les données sont ensuite exploitées en utilisant 1° une calibration pour la détermination de la taille du fragment (en pb) et 2° une calibration, qui tient compte de la diminution d'efficacité de la PCR en fonction du nombre de répétitions GGGGCC, pour la détermination du nombre de copies.

Ainsi, nous disposons d'un outil diagnostique simple et rapide qui s'ajoute à la RPP et nous permet de rendre les résultats des patients homozygotes pour un allèle de taille normale sur la base de deux expériences concordantes : absence de grande expansion identifiable en RPP et présence de deux copies d'un allèle de taille normale.

**Mots-clés :** C9ORF72, PCR Quantitative, DFT/SLA



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D038/#143

### Identification du gène responsable des formes héréditaires d'hypertension pulmonaire due à une maladie veino-occlusive.

Mélanie Eyries (1,2,3), David Montani (4,5,6), Barbara Girerd (4,5,6), Claire Perret (3,7), Anne Leroy (2), Christine Lonjou (8), Nadjim Chelghoum (8), Florence Coulet (2,3), Damien Bonnet (9), Peter Dormmüller (6,10), Elie Fadel (6,11), Olivier Sitbon (4,5,6), Gérald Simonneau (4,5,6), David-Alexandre Tregouët (3,7), Marc Humbert(4,5,6), Florent Soubrier (1,2,3)

1. UMR\_S956, INSERM et Université Pierre & Marie Curie, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
3. ICAN Institute for Cardiometabolism and Nutrition, Paris, France
4. Faculté de Médecine, Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre, France
5. Centre de Référence de l'Hypertension Pulmonaire Sévère, DHU thorax Innovation, Service de Pneumologie, Hôpital de Bicêtre, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France
6. UMR\_S 999, LabEx LERMIT, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson, France
7. UMR\_S 937, INSERM et Université Pierre & Marie Curie, Paris, France
8. Plate-forme Post-génomique (P3S), Université Pierre & Marie Curie, Paris, France
9. Service médico-chirurgical cardiaque, Hôpital Necker-enfants Malades, Paris, France
10. Département de pathologie, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis-Robinson, France
11. Département de chirurgie thoracique, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis-Robinson, France

**Auteur correspondant :** EYRIES Mélanie (melanie.eyries@psl.aphp.fr)

La maladie veino-occlusive pulmonaire (MVO) est une entité spécifique d'hypertension pulmonaire qui se caractérise par une atteinte veineuse prédominante avec une obstruction diffuse et extensive par du tissu fibreux des veines de petite taille et des veinules pulmonaires. La présentation clinique et les caractéristiques hémodynamiques des patients MVO sont proches de l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP), cependant les patients atteints de MVO ont un pronostic plus péjoratif et sont à risque de développer des œdèmes pulmonaires sévères après initiation des traitements spécifiques de l'HTAP. Une approche diagnostique intégrant la tomodensitométrie thoracique, les gaz du sang, les épreuves fonctionnelles respiratoires et le lavage bronchoalvéolaire permettent de dépister les sujets à risque mais la confirmation diagnostique de MVO est uniquement anatomopathologique grâce à une biopsie pulmonaire. Il est classiquement considéré que la MVO représente entre 5 et 10% des formes d'HTAP considérées initialement comme idiopathiques mais cette prévalence est probablement sous-estimée. La MVO peut survenir de façon sporadique ou sous une forme familiale.

Au sein du centre national de référence pour l'hypertension pulmonaire sévère, 13 familles atteintes de MVO ont été identifiées. Dans 8 familles le diagnostic de MVO a été confirmé au niveau histologique et dans les 5 familles restantes la MVO est considérée comme hautement probable d'après l'approche diagnostique définie ci-dessus. Toutes ces familles se caractérisent par la présence d'au moins deux enfants atteints et de parents sains suggérant que la maladie ségrège selon un mode récessif.

En appliquant une approche de séquençage d'exome entier, nous avons mis en évidence des mutations récessives qui co-ségrègent avec la maladie au sein d'un gène unique dans l'ensemble des 5 familles initialement testées. Par séquençage Sanger, nous avons ensuite identifié des mutations bi-alléliques au sein de ce même gène dans les 8 autres familles. Nous avons également mis en évidence des mutations bi-alléliques dans ce nouveau gène dans 5 cas sur 20 de formes sporadiques de MVO histologiquement prouvées. Toutes les mutations identifiées, soit à l'état homozygote, soit à l'état hétérozygote composite, entraînent une perte de fonction du gène.

Nous avons ainsi identifié le gène responsable de la totalité des formes familiales de MVO testées et d'un quart des formes

apparemment sporadiques, faisant de ce nouveau gène un acteur majeur de l'architecture génétique de l'hypertension pulmonaire.

**Mots-clefs :** Whole exome sequencing, Hypertension artérielle pulmonaire, Transmission récessive

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D039/#145

### Nouvelle forme d'hémochromatose adulte à transmission dominante

Zoubida Karim (1), Dounia Houamel (1), Caroline Kannengieser (2), Pierre Bedossa (3), Caroline de Kerouenc (4), Carole Beaumont (1), Hervé Puy (1), Dimitri Tchernitchko (2)

1. INSERM U773, Centre de Recherche Biomédicale Bichat-Beaujon, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital Bichat, Paris, France
3. Laboratoire d'Anatomo-pathologie, Hôpital Beaujon, Clichy, France
4. Département d'Hépatologie, Hôpital Beaujon, Clichy, France

**Auteur correspondant :** Tchernitchko Dimitri (dimitri.tchernitchko@bch.aphp.fr)

L'hémochromatose héréditaire (HH) est caractérisée par une accumulation progressive du fer dans l'organisme. En l'absence du traitement approprié (saignés), la surcharge en fer conduit à des atteintes d'organes multiples telles que la cirrhose hépatique, la cardiomyopathie, le diabète, l'hypogonadisme et les arthralgies. L'HH est causée par des mutations dans des différents gènes codant pour des protéines impliquées dans la régulation de la production de l'hepcidine. L'hepcidine est une hormone hyposidérémique qui agit en régulateur négatif de l'absorption duodénale du fer et du recyclage du fer des macrophages du foie et de la rate. Dans la population caucasienne, les mutations du gène HFE sont responsables de la forme la plus fréquente d'HH (80%), tandis que les mutations des gènes HAMP (hepcidine), HJV (hémoujuvéline) et TFR2 (récepteur-2 à la transferrine) sont responsables des formes rares d'HH (

La régulation de la synthèse de l'hepcidine par le fer passe par la voie BMP6/HJV/SMAD. Le gène BMP6 (6p24-p23) appartient à la famille TGF-beta, possède 7 exons et code pour une préprotéine de 513 acides aminés qui est clivée en propeptide et un peptide mature sécrété de 138 acides aminés. La fixation de BMP6 sur ses récepteurs BMRI-II et le corécepteur HJV aboutit à l'activation transcriptionnelle du gène HAMP. Les souris knock-out BMP6 présentent le phénotype d'HH sévère et précoce mimant l'hémochromatose juvénile chez l'homme.

Nous avons utilisé l'approche gène-candidat en cherchant des mutations du gène BMP6 dans les surcharges en fer non expliquées par des mutations dans les gènes connus d'HH. Le séquençage direct chez 70 patients non apparentés a permis d'identifier six porteurs hétérozygotes de mutations faux sens du gène BMP6. Nous n'avons pas trouvé les mutations identifiées chez les patients dans 400 chromosomes témoins et les acides aminés affectés sont conservés entre les espèces. L'analyse familiale montre une transmission dominante à pénétrance incomplète. Les tests fonctionnels réalisés dans les cellules en culture montrent que les mutations altèrent la voie de signalisation SMAD et diminuent de façon significative l'expression de l'hepcidine. L'ensemble des résultats obtenus nous permet d'affirmer que les mutations du gène BMP6 sont responsables d'une nouvelle forme d'hémochromatose dominante. La fréquence et pénétrance exactes de cette forme d'HH restent à déterminer par une étude plus large.

**Mots-clefs :** hémochromatose, dominante, hepcidine

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D040/#146

### Etude des mécanismes de régulation à distance du gène CFTR

Stéphanie MOISAN (1), Claude FEREC (1)  
1. INSERM U1078, EFS - UBO - CHU Morvan, BREST, France

**Auteur correspondant :** MOISAN Stéphanie (moisan.stephanie@hotmail.fr)

L'objectif principal de ce projet est de mieux décrypter les mécanismes de régulation à distance du gène CFTR, en identifiant des séquences régulatrices éloignées, mais pouvant, par des mécanismes de repliement, interagir spécifiquement avec celui-ci. Depuis le clonage de ce gène en 1989, 1947 mutations ont été identifiées. Les mécanismes complexes de sa régulation; à la fois dans le temps et dans l'espace, n'ont pourtant toujours pas été déterminés.

De nombreuses études démontrent que le profil d'expression des gènes est associé à une signature conformationnelle de la chromatine. Des contacts chromatiniens à distance en cis ou en trans peuvent réguler l'expression de gènes.

Afin d'étudier ces interactions, nous avons dans un premier temps mis au point la technique de Capture de Conformation Chromosomique (3C). Suite à cette technique nous sommes passés à une approche à plus grande échelle, la technique de Copie Conforme de 3C (5C), qui permet de mesurer des milliers d'interactions chromatiniennes en une analyse.

Une première région de 783 kb, comprenant le gène CFTR, a été recouverte par 144 amorces 5C. Les possibles interactions entre les régions de ce locus et le promoteur CFTR sont analysées par séquençage nouvelle génération sur Ion PGM™.

Ces analyses sont réalisées sur des cultures primaires : un type cellulaire exprimant fortement le gène CFTR (cellules épithéliales) et un autre type ne l'exprimant pas ou très peu (fibroblastes de peau).

Nous avons ainsi développé un protocole de prélèvement et de remise en culture de cellules épithéliales nasales. Nous pouvons alors réaliser des analyses sur des cellules-témoin isolées à partir de sujets sains et sur des cellules de patients mucoviscidose chez qui au moins un allèle CFTR n'a pas été identifié.

Les premiers résultats obtenus sur 6 librairies de cellules épithéliales et 5 librairies de fibroblastes de peau, isolées à partir de témoins non porteurs de mutation CFTR, sont reproductibles et mettent en évidence des régions qui semblent être impliquées dans une interaction avec le promoteur. On peut en particulier observer des interactions plus fortes au sein du promoteur des fibroblastes de peau. Ces interactions pourraient être inhibitrices et donc empêcher la transcription du gène.

Ces analyses vont nous permettre de déterminer une conformation expression-dépendante du locus CFTR.

En comparant cette conformation-type, avec celles de patients mucoviscidose génotypiquement non identifiés, des modifications conformationnelles de la chromatine vont être recherchées. Ces modifications pourraient expliquer un dysfonctionnement du gène : soit en empêchant le rapprochement d'une séquence régulatrice, soit à l'inverse en créant une interaction qui inhibe la régulation de ce gène. .

Grâce à ces travaux nous espérons apporter de nouvelles informations sur les mécanismes de régulation gouvernant l'expression du gène CFTR.

**Mots-clefs :** CFTR, Régulation, Techniques 3C - 5C

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D041/#147

### Des délétions partielles du gène de la progranuline responsables de dégénérescences lobaires fronto-temporales

Fabienne Clot (1,2), Anne Rovelet-Lecrux (3), Foudil Lamari (4), Sandrine Noël (1), Boris Keren (5), Agnès Camuzat (6,7,8), Agnès Michon (2,9), Ludmila Jornea (6,7,8), Béatrice Laudier (10), Anne de Septenville (6,7,8), Paola Caroppo (6,7,8), Dominique Campion (3), Cécile Cazeneuve (1), Alexis Brice (1,6,7,8,9), Eric LeGuern (1,6,7,8), Isabelle Le Ber (2,6,7,8,9).

1. UF de Neurogénétiq ue Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France.
2. Centre National de Référence des Démences Rares, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France.
3. Inserm U1079, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale, CHU de Rouen, Rouen, France.
4. Laboratoire de Biochimie Métabolique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France.
5. UF de Génétique Chromosomique, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France.
6. Inserm, UMR\_S975, CRICM, Paris, France.
7. UPMC Université Paris 06, UMR\_S975, Paris, France.
8. CNRS, UMR 7225, Paris, France.
9. Département de Neurologie, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France.
10. Centre Hospitalier Régional d'Orléans, Structure Interne de Génétique, Hôpital de la Source, Orléans, France.

**Auteur correspondant :** Clot Fabienne (fabienne.clot@psl.aphp.fr)

Les dégénérescences lobaires fronto-temporales (DLFT) sont caractérisées par des troubles du comportement et du langage. Des mutations du gène de la progranuline (GRN) sont responsables d'une forme autosomique dominante de DLFT, caractérisées par la présence d'inclusions TDP-43 positives. La fréquence des mutations du gène GRN varie de 5% à 22% selon les études et atteint environ 20% dans les formes familiales de la maladie. Les mutations identifiées sont des mutations non-sens, d'épissage ou des petites insertions ou délétions entraînant un codon stop prématuré. Il en résulte une perte de fonction partielle de la protéine (haploinsuffisance) et la présence d'un taux de progranuline significativement abaissé dans le plasma. Des délétions complètes ou quasi complètes du gène ont été identifiées dans seulement trois familles, mais aucune délétion partielle impliquant 1 ou 2 exon(s) n'a été identifiée à ce jour.

Nous avons réalisé le dosage plasmatique de la progranuline chez 128 patients atteints de DLFT. Trente quatre présentaient un taux plasmatique de la progranuline abaissé. Parmi ces 34 patients, 31 étaient porteurs d'une mutation ponctuelle du gène GRN. Afin de rechercher la présence de grands réarrangements du gène GRN chez ces trois patients non porteurs d'une mutation ponctuelle du gène GRN et présentant un taux plasmatique de la progranuline abaissé, nous avons utilisé deux techniques de quantification des exons : la multiplex ligation-dépendent probe amplification (MLPA ; Kit P-275) et la quantitative multiplex PCR of short fluorescent fragments (QMPSF). Nous avons identifié pour la première fois deux délétions partielles à l'état hétérozygote du gène GRN chez deux patients : une délétion affectant l'exon 1 et une partie de l'intron 1 et une délétion-insertion qui consiste en une délétion de 1410 pb emportant une partie de l'intron 1, l'exon 2 et une partie de l'exon 3 et une insertion de 5 pb située entre les points de cassure (c.-7-1121\_159delinsGATCA). Ainsi sur les 3 patients atteints de DLFT non porteurs d'une mutation ponctuelle du gène GRN et présentant un taux plasmatique de la progranuline abaissé, deux ont une origine génétique identifiée.

Notre étude montre que même si la fréquence des grands réarrangements du gène GRN est faible dans notre cohorte de patients DLFT (1.6%; 2/128), la recherche des grands réarrangements doit être réalisée systématiquement chez les patients avec un taux plasmatique de la progranuline abaissé et non porteurs d'une mutation ponctuelle du gène GRN.

**Mots-clefs :** Progranuline (GRN), dégénérescence lobaire fronto-temporale, deletion partielle

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D042/#150

### Mutations d'ARNts de l'ADN mitochondrial responsables d'une encéphalopathie associée à une cardiomyopathie

Marie Nowoczyn (1), Marie-José Penniello-Valette (2), Marie-Hélène Read (1) Pascale Maragnes (3), Françoise Chapon (4), Stéphane Allouche (1)  
1. Service de Biochimie, Centre hospitalier et universitaire, Caen, France  
2. Service de pédiatrie médicale, Centre hospitalier et universitaire, Caen, France  
3. Service de cardiologie, Centre hospitalier et universitaire, Caen, France  
4. Service d'anatomie pathologie, Centre hospitalier et universitaire, Caen, France

**Auteur correspondant :** Allouche Stéphane (allouche-s@chu-caen.fr)

Les mutations de l'ADN mitochondrial sont responsables de maladies hétérogènes sur le plan clinique caractérisées par un déficit de production énergétique.

Nous rapportons le cas d'une petite fille de 3 ans et demi explorée pour retard psychomoteur avec régression des acquisitions. Il s'agit d'un enfant né à terme avec un retard de croissance intra-utérin noté pendant la grossesse. Une cassure staturo-pondérale est observée vers 7-8 mois sans étiologie retrouvée. A l'âge de 36 mois, une régression psycho-motrice est observée suite à un épisode viral. L'IRM cérébrale met alors en évidence une leucodystrophie et une hyperlactatémie est objectivée sur un bilan sanguin. La biopsie musculaire est réalisée et montre une atrophie des fibres de type II ainsi qu'une faible réactivité de la cytochrome c oxydase sans agrégats mitochondriaux. L'étude de la chaîne respiratoire effectuée sur le muscle montre un déficit combiné et partiel des complexes I (25% activité normale) et IV (33% activité normale) alors que l'étude en polarographie réalisée sur les fibroblastes ne révèle aucune anomalie.

Devant ce déficit combiné de la chaîne respiratoire et la notion d'épilepsie chez une tante maternelle, nous avons entrepris de séquencer les 22 ARNts de l'ADN mitochondrial et 3 substitutions sont détectées dans les ARNts Trp, Ser2 et Leu2. La mutation A5559G est détectée chez cet enfant à l'état homoplasmique dans le muscle, les leucocytes, les cellules épithéliales rénales et jugales mais à l'état hétéroplasmique dans fibroblastes alors que chez la mère, cette mutation est toujours retrouvée à l'état hétéroplasmique dans les différents tissus étudiés (leucocytes, cellules épithéliales rénales et jugales). Quant aux substitutions C-CC (12237-12241) et T12297C localisées dans les ARNts Ser2 et Leu2, respectivement, elles ont été retrouvées à l'état homoplasmique aussi bien chez l'enfant que chez sa mère ce qui suggère qu'il s'agit probablement de polymorphismes. Toutefois, la substitution T12297C a été précédemment rapportée comme étant pathogène et responsable d'une cardiomyopathie mitochondriale (Tasso et al., 1999 ; Grasso et al., 2001). Lors du bilan complémentaire réalisé chez l'enfant, nous avons mis en évidence une hypertrophie ventriculaire gauche électrique à l'ECG et une cardiomyopathie hypertrophique à l'échographie transthoracique.

En conclusion, cette présentation clinique de maladie mitochondriale (encéphalopathie et cardiomyopathie) résulterait probablement de la mutation A5559G dans l'ARNt Trp mais son association à la substitution T12297C dans l'ARNt Leu2 pourrait provoquer une cardiomyopathie. Ce cas illustre la difficulté d'interprétation des mutations retrouvées dans l'ADN mitochondrial et suggère que même devant une mutation pathogène, il serait intéressant de séquencer la totalité de l'ADN mitochondrial. Des mutations secondaires pourraient au moins en partie expliquer les phénotypes extrêmement variables observés pour une même mutation.

**Mots-clefs :** ADN mitochondrial, encéphalopathie, cardiomyopathie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D043/#151

### Identification d'une grande délétion du gène WFS1 chez un patient présentant un syndrome de Wolfram

cecile rouzier (1), Annabelle Chaussonot (2), Manal Quere (3), Samira Ait-El-Mkadem Saadi (2), Sylvie Bannwarth (2), Marc Nicolino (4), Véronique Paquis (2)

1. Service de génétique médicale, Hôpital L'Archet 2, nice, France  
2. Service de génétique médicale, Hôpital L'Archet 2, Nice, France  
3. Service de génétique médicale, Hopital L'archet 2, Nice, France  
4. Service endocrinologie pédiatrique, Hôpital Bron, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Rouzier cecile (cecilerouzier@gmail.com)

Les mutations du gène WFS1 sont responsables du syndrome de Wolfram, pathologie autosomique récessive caractérisée par la survenue précoce d'un diabète et d'une atrophie optique (AO) ainsi que de phénotypes autosomiques dominants tels que les surdités neurosensorielles basses fréquences et de formes associant AO et surdité. Le gène WFS1 comprend 8 exons et code pour une protéine transmembranaire localisée au niveau du réticulum endoplasmique. Plus de 150 mutations différentes ont été décrites depuis son identification en 1998. Récemment, Lopez de Heredia et al. ont publié les données cliniques et moléculaires de 412 patients avec WS issus de 49 références. 178 mutations différentes ont été répertoriées chez 337 des 412 patients. La majorité sont des mutations perte de fonction mais des mutations faux-sens ont aussi été identifiées dans 30% des cas. A ce jour, seules 2 études rapportent un grand réarrangement du gène WFS1, (i) en 1998, une large délétion de l'exon 8 chez un patient présentant un phénotype sévère ; (ii) récemment, un réarrangement complexe chez un patient avec un phénotype atypique associant un diabète insipide et une hypoplasie des nerfs optiques de début néonatal. Dans 8,31% des cas rapportés, une seule mutation avait pu être identifiée suggérant (i) un échec pour identifier une deuxième mutation, (ii) l'existence de mutations dominantes, (iii) l'implication d'autres gènes.

Parmi les 94 patients de notre cohorte française avec mutations WFS1 identifiées par séquençage, nous avons identifié seulement une mutation hétérozygote chez 9 patients présentant un phénotype compatible avec une transmission autosomique récessive. Dans le but de mettre en évidence de grands remaniements non identifiés par les techniques de séquençage standards, nous avons réalisé une étude par PCR quantitative en temps réel du gène WFS1 chez ces 9 patients ainsi que chez deux patients qui présentaient une mutation hétérozygote impliquée dans les phénotypes dominants associant atrophie optique et surdité mais également décrite dans des tableaux de WS classique. Nous décrivons une large délétion, caractérisée par PCR quantitative et CGH-array, de 17444 pb comprenant les exons 5 à 8 de WFS1 ainsi qu'une région de 3789 pb en aval, chez un enfant de 6 ans présentant un diabète et une surdité, et hétérozygote pour une mutation du gène WFS1 déjà décrite.

A ce jour très peu de données sont disponibles sur la recherche d'éventuels grands réarrangements du gène WFS1 en routine et ainsi sur la fréquence de ces réarrangements. Dans cette étude, nous rapportons les résultats d'une analyse par PCR quantitative réalisée sur une grande cohorte et montrons que les remaniements de grande taille du gène WFS1 bien que rares, sont probablement plus fréquents que ce que l'on pense et doivent être recherchés chez tous les patients avec une seule mutation hétérozygote identifiée permettant de confirmer le diagnostic de syndrome de Wolfram et ainsi d'améliorer la prise en charge

**Mots-clefs :** Wolfram, WFS1, délétion



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D044/#155

### Hypertrichosis with acromegaloïd facial features with or without gingival hyperplasia : un deuxième cas avec mutation du gène ABCC9

Anne-Marie Guerrot (1), Claudine Lecointre (2), Patricia Leclerc (3), Hermann-Josef Lüdecke (4), Thierry Frebourg (5), Pascale Saugier-veber (5), Valérie Drouin-Garraud (1)

- Département de Génétique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
- Département de Pédiatrie, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
- Endocrinologie, Clinique Mathilde, Rouen, France
- Bereich Humangenetik, Universitätsklinikum, Essen, Allemagne
- Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Guerrot Anne-Marie (a\_bodiou@yahoo.fr)

Trois entités cliniques comportant une hypertrichose généralisée et un faciès grossier acromégaloïde ont été identifiées : (1) Le syndrome AFA (acromegaloïd facial appearance syndrome, OMIM #102150), (2) le syndrome HAFF (Hypertrichosis with acromegaloïd facial features with or without gingival hyperplasia, OMIM #135400) et (3) le syndrome de Cantù (OMIM #239850). Le syndrome de Cantù est la plus connue de ces trois entités [Cantù et al., 1982]. Ce syndrome associe macrosomie néonatale, hypertrichose congénitale, traits grossiers, cardiomégalie et chondrodysplasie [Cantù et al., 1982]. Ces trois syndromes se transmettent selon un mode autosomique dominant. En 2012, par séquençage d'exomes, Harakalova et al. et van Bon et al ont, de façon indépendante, identifié chez la majorité des patients porteurs de syndrome de Cantù (n=14/16 et n=11/14 patients respectivement) des mutations faux sens hétérozygotes dans le gène ABCC9, situé en 12p12.1 [Harakalova et al., 2012; van Bon et al., 2012]. Czeschik et al. ont détecté des mutations de ABCC9 chez une patiente atteinte de syndrome AFA et une patiente avec syndrome HAFF et ont proposé de considérer que ces trois entités appartiennent au même spectre phénotypique résultant de mutations du gène ABCC9 [Czeschik et al., 2013]. Nous rapportons l'observation d'une patiente née à terme avec une macrosomie néonatale, une hypertrichose généralisée, qui a développé une hypertrophie gingivale, une macromastie et une dysmorphie faciale évolutive (télecanthus, traits grossiers, philtrum long, implantation basse des cheveux), sans cardiopathie ni anomalie osseuse, faisant suspecter le diagnostic de syndrome HAFF. L'analyse moléculaire a mis en évidence une mutation faux sens c.3460C>T dans l'exon 27 du gène ABCC9. Cette mutation a déjà été identifiée chez plusieurs patients porteurs d'un syndrome de Cantù [Harakalova et al., 2012, van Bon et al., 2012]. Il s'agit du deuxième cas rapporté de mutation du gène ABCC9 dans un syndrome HAFF, confortant l'hypothèse émise par Czeschik que les mutations de ce gène conduisent à un spectre phénotypique englobant les syndromes de Cantù, AFA et HAFF. Compte-tenu de la cardiomyopathie hypertrophique observée dans le syndrome de Cantù, il semble prudent d'instaurer une surveillance cardiologique chez tous les patients présentant une mutation du gène ABCC9, quel que soit leur phénotype.

**Mots-clés :** Cantu syndrome, hypertrichose, hyperplasie gingivale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D045/#162

### Amyotrophie spinale proximale de forme néonatale : caractérisation du phénotype pré- et post-natal à partir de 12 patients porteurs d'un génotype 0SMN1/1SMN2

Sarah Grotto (1), Stéphane Marret (2), Jean-Marie Cuisset (3), Valérie Drouin-Garraud (1), Séverine Drunat (4), Anne-Marie Guerrot (1), Alexandra Afenjar (5), Séverine Audebert-Bellanger (6), Jean-Paul Bonnefont (7,8), Isabelle Desguerres (9), Patricia Faure (10), Vincent Flurin (11), Anne-Gaëlle Grebille (12), Hubert Journel (13), Anne-Gaëlle Le Moing (14), Fabrice Lesage (15), Stanislas Lyonnet (7,8), Sylvie Odent (16), Ghislaine Plessis (17), Sylvain Renolleau (18), Marlène Rio (7,8), Joëlle Roume (19), Brigitte Simon-Bouy (20), Andreea Totoescu-Seferian (21), Renaud Touraine (22), Catherine Vanhulle (2), Marjolaine Willems (23), Eric Verspyck (24), Thierry Frébourg (1,10), Pascale Saugier-veber (1,10)

- Service de Génétique, CHU, Rouen, France
- Service de Pédiatrie Néonatale et Réanimation, CHU, Rouen, France
- Service de Neuropédiatrie et centre de référence des maladies neuromusculaires, CHRU, Lille, France
- Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, APHP, Paris, France
- Service de Génétique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
- Service de Génétique, CHU, Brest, France
- Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants-Malades, APHP, Paris, France
- Inserm U781, Institut Imagine, Université René Descartes, Paris, France
- Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants-Malades, APHP, Paris, France
- Inserm U1079, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, France
- Service de Pédiatrie, CH, Le Mans, France
- Service de Gynécologie-Obstétrique, CH, Saint-Brieuc, France
- Service de Génétique, CH, Vannes, France
- Service de Neuropédiatrie, CHU, Amiens, France
- Service de Réanimation Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants-Malades, APHP, Paris, France
- Service de Génétique, CHU, Rennes, France
- Service de Génétique, CHU, Caen, France
- Service de Réanimation Pédiatrique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
- Service de Génétique, CH, Poissy-Saint-Germain-en-Laye, France
- Service de Génétique, CH, Versailles, France
- Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
- Service de Génétique, CHU, Saint-Etienne, France
- Service de Génétique, CHU, Montpellier, France
- Clinique Gynécologique et Obstétricale, CHU, Rouen, France

**Auteur correspondant :** Saugier-veber Pascale (benoit.pascale.veber@wanadoo.fr)

L'amyotrophie spinale typique (SMA) est une affection neuromusculaire qui résulte de l'inactivation homozygote du gène SMN1. La sévérité de la maladie est inversement corrélée au nombre de copies du gène modificateur principal, le gène SMN2. Le génotype 0SMN1/1SMN2, très rare, est associé aux formes les plus sévères de SMA, correspondant au type Ia. A ce jour, seuls quelques cas, le plus souvent isolés, ont été rapportés et les connaissances concernant la période anténatale sont limitées. Grâce à la base de données nationale UMD-SMN1, les patients diagnostiqués en France depuis 1999 avec un génotype 0SMN1/1SMN2 ont pu être répertoriés. Nous décrivons le phénotype pré- et post-natal de SMA de type Ia à partir des données recueillies pour 12 patients et des données de 33 patients atteints de SMA de type Ia issus de la littérature. Elle se manifeste dès la naissance par une atteinte neurologique extrêmement sévère, comparable à celle de la SMA de type I classique à un stade évolué, avec une atteinte respiratoire nécessitant une assistance ventilatoire dans les premières minutes de vie (n=39/43), une hypotonie sévère (n=37/37), un déficit musculaire global (n=31/31), une amyotrophie (n=12/12), une absence de réflexe ostéotendineux (n=28/28), des fasciculations linguales (n=20/21) et une atteinte du tronc cérébral : troubles de la succion/déglutition (n=13/13), diminution de la motricité faciale (n=12/22). L'éveil est le



plus souvent conservé (n=16/19). Il existe des signes d'immobilisme fœtal : rétractions articulaires (n=38/42), éléments dysmorphiques (n=15/18), œdèmes des extrémités (n=12/12). Des malformations cardiaques sont fréquemment observées (n=20/26), le plus souvent des anomalies septales. Dans la plupart des cas, la survie n'excède pas un mois. L'évolution est marquée par la survenue de bradycardies, d'atélectasies et d'épisodes d'hypoventilation. Les signes en période anténatale sont discrets, inconstants et peu spécifiques. Il existe fréquemment une diminution des mouvements actifs fœtaux (n=30/39), ressentie par les mères au 3ème trimestre de grossesse et le plus souvent non objectivée sur les échographies. Les rétractions articulaires semblent apparaître tardivement et ne sont généralement pas visualisées sur les échographies. Dans certains cas, une hyperclarté nucale (n=10/17) ou un hydramnios (n=10/28) sont observés. Ainsi, la SMA de type Ia est extrêmement difficile à détecter en période anténatale. Sa présentation est distincte des tableaux d'immobilismes fœtaux du 1er ou 2ème trimestre de grossesse. Une diminution des mouvements actifs fœtaux au 3ème trimestre de la grossesse peut justifier la réalisation d'un diagnostic moléculaire de SMA en période anténatale si elle est associée soit à une hyperclarté nucale au 1er trimestre de la grossesse, soit à un hydramnios, soit à une malformation cardiaque ou en présence d'antécédents familiaux de SMA ou dans un contexte de consanguinité chez les parents.

**Mots-clefs** : SMA type Ia, phénotype prénatal, phénotype postnatal

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D046/#164

### Syndrome d'Olmsted avec erythermalgie due à une nouvelle mutation du gène TRPV3 : association fortuite ou nouvelle expression clinique de la maladie ?

Sabine Duchatelet (1), Solenn Pruvost (2), Simon de Veer (1), Sylvie Fraitag (3), Patrick Nitschké (4), Christine Bole-Feysot (2), Christine Bodemer (5), Alain Hovnanian (6)

1. INSERM U781, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
2. Plateforme de Génomique, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
3. Département de Pathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
4. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
5. Département de Dermatologie, Centre de Référence National des Maladies Génétiques à Expression Cutanée (MAGEC), Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
6. INSERM U781, Département de Génétique, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France

**Auteur correspondant** : Hovnanian Alain (alain.hovnanian@inserm.fr)

Le syndrome d'Olmsted (SO) est une génodermatose rare et sévère, caractérisée par un épaississement majeur et douloureux de la couche cornée de la paume des mains et de la plante des pieds (kératodermie palmo-plantaire). Elle est classiquement associée à des plaques kératosiques péri-orificielles et des zones de constriction mutilantes des doigts, mais celles-ci sont inconstantes. Une cinquantaine de cas ont été rapportés mais les bases moléculaires du SO n'ont été déterminées que chez 9 patients : mutations gain de fonction du gène TRPV3 (transient receptor potential vanilloid 3) dans 8 cas familiaux ou sporadiques de transmission autosomique dominante; mutation du gène MBTPS2 (membrane-bound facteur de transcription protéase, site 2) dans une forme récessive liée à l'X.

Nous présentons un nouveau cas sporadique présentant un SO atypique associé à une erythermalgie sévère ainsi que la base moléculaire sous-jacente.

Notre patiente est une enfant âgée de 8 ans, issue de parents d'origine française, non consanguins et en bonne santé. Elle présente une kératodermie plantaire sévère ayant débuté dès l'âge de 3 ans, non mutilante, sans plaques kératosiques péri-orificielles. La kératodermie est associée à d'intenses crises aiguës d'inflammation, de démangeaisons, de sensation de brûlure, de vasodilatation et de rougeur des extrémités (mains, pieds, oreilles), déclenchées par la chaleur, et évoquant une erythermalgie. Ses ongles sont minces et cassants, ses cheveux fins, secs, frisés et incoiffables. La biopsie cutanée montre un épiderme hyperplasique avec hyperkératose importante (épaississement de la couche cornée), une parakératose, une hypergranulose avec papillomatose, ainsi que des capillaires dilatés dans la partie supérieure du derme.

Les bases moléculaires du syndrome d'Olmsted étant encore inconnues lorsque la patiente nous a été adressée, nous avons réalisé un séquençage d'exome après avoir exclu par séquençage les gènes connus des pachyonychies congénitales et de l'erythermalgie essentielle. Nous avons ainsi identifié une nouvelle mutation faux-sens du gène TRPV3, p.Leu673Phe, survenant de novo, et présente à l'état hétérozygote. TRPV3 code un canal ionique sensible à la température. L'acide aminé Leu673 est très conservé entre espèces et les logiciels prédisent un caractère délétère. La modélisation *in silico* par homologie montre que Leu673 est situé immédiatement au-dessus du résidu Met677 au niveau de la porte d'activation. Cette mutation induit donc un changement significatif de la taille de l'acide aminé à un emplacement critique du canal ionique.

Cette étude confirme l'importance de TRPV3 dans la pathogenèse du syndrome d'Olmsted. L'association SO et erythermalgie n'a pas été

décrite dans la littérature. Celle-ci pourrait donc être fortuite ou correspondre à une nouvelle expression clinique du dysfonctionnement de TRPV3, élargissant ainsi le spectre phénotypique de ce syndrome rare.

**Mots-clés :** Syndrome d'Olmsted, Séquençage d'exome, TRPV3

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D047/#166

### Un nouveau locus associé à une neuropathie héréditaire sensitive identifié chez le Chien : un modèle d'étude pour les neuropathies périphériques sensibles humaines

Jocelyn PLASSAIS (1), Manon PARADIS (2), Benoit HEDAN (1), Alix POMMIER (1), Eric GAGUERE (3), Laetitia LAGOUTTE (1), Christophe HITTE (1), Thomas DERRIEN (1), Catherine ANDRE (1)

1. CNRS, UMR 6290, Université de Rennes 1, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Rennes, France
2. Department of Clinical Sciences, Faculté de Médecine Vétérinaire, University of Montreal, Québec, Canada
3. , Clinique Vétérinaire Saint Bernard, Lomme, France

**Auteur correspondant :** PLASSAIS Jocelyn (jocelyn.plassais@univ-rennes1.fr)

Parmi les nombreuses neuropathies périphériques héréditaires, certaines formes sont associées à une perte de sensibilité à la douleur accompagnée parfois d'automutilation. Bien qu'un certain nombre de gènes ait déjà été découvert chez l'Homme, ils n'expliquent cependant pas l'ensemble des patients atteints par ces neuropathies sensibles. D'une manière surprenante, des neuropathies similaires existent dans certaines races de chien, qui présentent ces symptômes avec des fréquences allant jusqu'à 1% de la race. Cette prédisposition génétique est la conséquence directe de mariages consanguins et de l'utilisation massive de champions pour la reproduction. Chez le chien, les signes cliniques apparaissent vers 4 mois et se traduisent par une insensibilité à la douleur observée uniquement aux niveau des pattes, accompagnée la plupart du temps de mutilations des doigts. L'étude des pedigrees de ces chiens nous a permis de confirmer un modèle de transmission autosomique récessif. Grâce à la collecte de prélèvements sanguins à partir desquels nous avons extrait l'ADN, nous avons génotypé 30 chiens atteints et 30 chiens sains avec des puces Illumina (HD 170000 SNP array). Une étude génétique d'association nous a permis d'identifier un locus de 1,5 Mb, fortement associé à cette neuropathie (p-value corrigée par Bonferroni =  $2.5 \times 10^{-6}$ ). Chez l'Homme, ce locus n'est pas connu pour être associé à ce type de neuropathie périphérique sensitive. Grâce aux techniques actuelles de séquençage NGS, nous avons séquencé l'intégralité de ce locus de 2 Mégabases chez 4 chiens atteints et 4 chiens sains. Nous avons ensuite identifié un variant qui ségrège parfaitement avec la maladie, dans une population de 800 chiens. Ce variant modifie la séquence d'un ARN long non codant (LncRNA), partageant un promoteur bidirectionnel avec un gène impliqué dans les mécanismes moléculaires de perception de la douleur / ou avec un gène candidat métabolique très pertinent. L'étude fonctionnelle de cet ARN non codant, et de l'effet de sa mutation sur le gène candidat est en cours. Ainsi, ce travail chez le Chien offre une réelle opportunité d'identifier un nouveau gène/voie métabolique impliqué dans ce type de neuropathies sensibles chez l'Homme ainsi que dans le métabolisme de la douleur. De plus, l'altération génétique identifiée permettrait de mettre en évidence un mécanisme de régulation génique faisant intervenir des ARN non codants.

**Mots-clés :** Neuropathie périphérique sensitive, modèle Chien, douleur

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D048/#168

### Diagnostic moléculaire du syndrome de De Vivo (déficit en GLUT1, gène SLC2A1) en France depuis 2005.

Sandrine Vuillaumier-Barrot (1), Christiane Le Bizec (1), Sylvie Alglave (1), Marie Hully (2), Nadia Bahi-Buisson (2), Nathalie Seta (3)

1. Biochimie et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, PARIS, France
2. Neuropédiatrie, Hôpital Necker, PARIS, France
3. Biochimie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, PARIS, France

**Auteur correspondant :** vuillaumier-Barrot Sandrine (sandrine.vuillaumier@bch.aphp.fr)

Le syndrome de déficit en transporteur du glucose de type 1 (GLUT-1, OMIM 606777), décrit en 1991 par De Vivo, de transmission généralement autosomique dominante, est lié à un défaut de transport du glucose au niveau de la barrière hémato-encéphalique, et peut être traité par un régime céto-gène. Il se manifeste par une encéphalopathie comportant une épilepsie pharmacorésistante, une microcéphalie acquise, un retard du développement psychomoteur, une ataxie intermittente et des troubles neurologiques paroxystiques (mouvements anormaux). Ces derniers sont parfois observés isolément sans épilepsie et correspondent à des mouvements choréiques des extrémités ou à une dyskinésie paroxystique induite par l'exercice. Le diagnostic, orienté par la clinique et une hypoglycorachie (glycorachie/glycémie < 0,6), repose sur la mise en évidence d'une mutation hétérozygote sur le gène SLC2A1, le plus souvent de novo. La recherche de mutations sur SCLC2A1 se fait par séquençage des 10 exons et des régions introniques flanquantes, puis en cas d'absence de mutation, par la recherche d'une hémizygotie par MLPA (MRC-Holland).

Depuis 2005, 437 demandes d'étude moléculaire de cas index ont été réalisées au laboratoire de l'hôpital Bichat : une mutation a été mise en évidence dans 79 familles, soit 18% des cas étudiés. Cinq cas sont familiaux autosomique dominant et 1 cas autosomique récessif. Les signes cliniques sont dominés par l'épilepsie (67%) et un retard mental ; 18 patients présentent des mouvements anormaux sans épilepsie (23%). L'âge médian de diagnostic est de 9,3 ans (6 mois à 36 ans). Le rapport glycorachie/glycémie varie de 0,20 à 0,50 (moyenne 0,37). Soixante neuf mutations différentes ont été identifiées (dont 50 nouvellement décrites) : 33 faux-sens, 14 décalages du cadre de lecture, 1 petite délétion, 5 épissage, 12 non-sens et 4 délétions du gène entier. L'exon 4 semble particulièrement impliqué (18 mutations). A noter, aucune mutation sur SLC2A1 n'a été identifiée pour près de la moitié des patients avec hypoglycorachie (n=69) adressés au laboratoire quelle que soit la clinique. Ces cas pourraient être dus à un défaut réversible transitoire du transport de glucose ou à d'autres causes non identifiées mais acquises comme infectieuses, traumatiques, certains médicaments ou bien une autre anomalie génétique actuellement inconnue. Nous avons donc recherché, sans succès, parmi 75 patients épileptiques négatifs pour SLC2A1, des mutations sur GLUT3 (SLC2A3), autre transporteur du glucose prédominant au niveau de la cellule neuronale, qui n'a pas encore été associé à une pathologie chez l'homme. D'autres gènes candidats doivent être considérés tels que les gènes modulant l'expression de GLUT1: facteurs de transcription, gènes impliqués dans les modifications post-traductionnelles comme la glycosylation ou la phosphorylation, ainsi que d'autres canaux ioniques ou transporteurs.

**Mots-clés :** GLUT1, De Vivo, épilepsie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D049/#170

### Seize ans de diagnostic moléculaire des troubles congénitaux de la glycosylation (CDG syndrome) en France

Sandrine Vuillaumier-Barrot (1), Thierry Dupré (2), Arnaud Bruneel (2), Christiane Le Bizec (1), Sylvie Aiglave (1), Malika Chelbi (3), Isabelle Chantret (4), Stuart Moore (4), Pascale De Lonlay (5), Nathalie Seta (2)

1. Biochimie et Génétique, AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
2. Biochimie Métabolique et Cellulaire, AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
3. Génétique, AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
4. INSERM U773 CRB3, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
5. Maladies Métaboliques, AP-HP, Hôpital Necker, Paris, France

**Auteur correspondant :** vuillaumier-Barrot Sandrine  
(sandrine.vuillaumier@bch.aphp.fr)

Les troubles congénitaux de la glycosylation (CDG syndrome) représentent un groupe de maladies autosomiques récessives caractérisé par un dysfonctionnement du système nerveux central associé ou non à une défaillance multi viscérale, lié à un défaut de N-glycosylation et impliquant des mutations décrites sur plus de 50 gènes. En France, au cours des 16 dernières années, nous avons diagnostiqué 185 patients (159 familles) dont 179 patients (153 familles) atteints de CDG de type I, 6 patients atteints de CDG II (3 MGAT2, 1 COG7 et 2 ATP6V0A2) et réalisés une cinquantaine de diagnostic prénatal. La moitié des patients est âgée de plus de 15 ans. L'âge médian au diagnostic est de 2,6 ans.

Parmi les patients CDG I, 110 patients (95 familles essentiellement non consanguines) sont des PMM2-CDG, le CDG le plus fréquent donc, dû à un déficit en phosphomannomutase (PMM) et lié à des mutations du gène PMM2 : 51 mutations PMM2 différentes ont été trouvées dans ces familles: 39 faux-sens, 7 sites d'épissage, 1 frameshift, 1 non-sens, 1 intronique profonde et deux grandes délétions du gène. La mutation la plus fréquente est la R141H qui représente 29% des allèles (n = 56), suivie par la F119L, 5.8% (n = 11), E139K 5.3% (n = 10) et I132T 4.2% (n=8) pour les principales, montrant le caractère très hétérogène des mutations. Onze mutations sont nouvelles. L'activité PMM dans les fibroblastes, les cellules lymphoblastiques ou les leucocytes des patients était diminuée de façon variable. Le pouvoir pathogène de certaines mutations nouvellement décrites a été vérifié par la mesure de l'activité PMM de la protéine mutée exprimée dans E coli. Nous avons caractérisé les délétions hétérozygotes complètes du gène PMM2 par puce CGH Agilent 15 K. Une première délétion est de 89761 pb (Hg18, chr16: 8 786 622-8 876 382) englobant quatre gènes ABAT, TMMEM186, PMM2 et CARHSP1 et le second patient présente une suppression d'environ 43500 pb de la région 5'UTR à l'intron 7 (Hg18, chr16: 8 789 898-8 833 406).

Le PMM-CDG donne un large panel de phénotype de l'hydrops fœtal à la forme asymptomatique. Dans les formes multi viscérales de PMM2-CDG (atteinte hépatique et/ou cardiaque), les mutations les plus sévères sont observées : R141H, F119L, D65Y, R123Q et V231M. Toutes sauf D65Y ont une activité résiduelle

Les autres 52 patients CDG I identifiés sont 10 MPI-CDG, 12 ALG6-CDG (6 familles), 4 DPM1-CDG (3 familles), 3 ALG12-CDG, 1 MPDU1-CDG, 1 ALG8-CDG, 7 ALG7-CDG (5 familles), 1 DK1-CDG, 8 ALG1-CDG, 4 SRD5A3-CDG et 1 DHDDS-CDG. Actuellement, 17 patients CDG I non encore typés sont en cours d'étude. Notre stratégie de diagnostic moléculaire évolue pour les CDG I vers un séquençage ciblé en moyen débit sur séquenceur MiSeq et/ou un séquençage d'exome.

**Mots-clefs :** CDG, glycosylation, PMM2

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D050/#171

### Kératodermies palmo-plantaires héréditaires : apport du modèle canin dans l'identification de nouveaux gènes pour l'Homme.

Anne THOMAS (1), Jocelyn PLASSAIS (2), Eric GAGUERE (3), Emmanuelle BOURRAT (4), Anne-Sophie GUILLORY (2), Caroline DUFAURE DE CITRES (1), Pascale QUIGNON (2), Frédérique DEGORCE-RUBIALES (5), Laetitia LAGOUTTE (2), Christophe HITTE (2), Emmanuel BENSIGNOR (6), Cécile KAERLE (1), Maxence DELVERDIER (7), Catherine ANDRE (2)

1. Antagene, Animal Genetics Laboratory, La Tour de Salvagny, France
2. CNRS, UMR 6290, Université de Rennes 1, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Rennes, France
3. , Clinique Vétérinaire Saint Bernard, Lomme, France
4. Département de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
5. Laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest, LAPVSO, TOULOUSE, France
6. , Clinique Vétérinaire de la Boulais, Cesson-Sévigné, France
7. Service d'Anatomie Pathologique, Ecole Vétérinaire de Toulouse, Toulouse, France

**Auteur correspondant :** THOMAS Anne (athomas@antagene.com)

Chez l'Homme, les kératodermies palmoplantaires héréditaires constituent un groupe complexe de gnodermatoses caractérisées d'un point de vue clinique par une hyperkératose au niveau des mains et des pieds. Plusieurs gènes ont déjà été identifiés comme étant responsables d'un grand nombre de ces kératodermies, dont des gènes codant des kératines. Cependant, certaines autres formes restent à ce jour non élucidées. De façon intéressante, plusieurs races de chiens sont prédisposées à développer spontanément des symptômes similaires au niveau des coussinets. Les premiers symptômes apparaissent chez les chiots âgés de 6 à 18 mois. Ils se caractérisent par un épaissement sévère des coussinets qui mène à la formation de profondes crevasses douloureuses pour le chien, pouvant conduire parfois à l'euthanasie du chien. D'un point histologique, ces kératodermies présentent les mêmes caractéristiques que les porokératoses humaines. Nous nous sommes intéressés à deux races particulièrement touchées : le Dogue de Bordeaux et l'Irish terrier. Chaque race a été étudiée de manière distincte formulant ainsi l'hypothèse que nous avons deux formes de kératodermies canines, représentant l'opportunité d'identifier deux nouvelles mutations pouvant entraîner une hyperkératose chez le Chien et l'Homme. Grâce à l'analyse des pedigrees de chiens atteints, nous avons émis l'hypothèse d'une transmission monogénique autosomique récessive dans chacune de ces races. Nous avons collecté plus de 500 prélèvements sanguins à partir desquels nous avons extrait l'ADN. Les génotypages sur puces Illumina (HD 170000 SNP array) de 100 Dogues de Bordeaux dont 30 chiens atteints, et de 33 Irish terriers dont 12 atteints, nous ont permis d'identifier des locus fortement associés à ces kératodermies. Chez le Dogue de Bordeaux, à partir d'une étude de liaison génétique complémentaire, sur une portion du pedigree, nous avons mis en évidence un locus sur le chromosome 9 canin, porteur d'un cluster de gènes de kératine et chez l'Irish terrier, nous avons pu identifier un locus de 3 Mb sur le CFA 5. Aucun des gènes présents sur ces locus n'ont, à ce jour, été associés chez l'Homme à une gnodermatose ce qui illustre la puissance du modèle canin pour la recherche de nouveaux gènes pour ce type de gnodermatoses.

**Mots-clefs :** Kératodermie palmo-plantaire, Modèle Chien, étude de liaison et GWAS

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D051/#175

### Mutation G287V homozygote du gène HHAT (Hedgehog acetyltransferase) responsable du syndrome chondrodysplasie-pseudohermaphrodisme.

Patrick Callier (1), Pierre Calvel (2), Periklis Makrythanasis (3), MD Resh (4), Christel Thauvin-Robinet (5), Frederico Santoni (2), Michel Guiponni (2), Sandy Lambert (6), Anne Vannier (7), Frederic Huet (1), Francine Mugneret (8), Laurence Faivre (9), Stylianos Antonarakis (2), Laurence Faivre (9), Serge Nef (10)

1. Département de Génétique, CHU DIJON, DIJON, France
2. Department of Genetic Medicine and Development, Geneva Medical School, Geneva, Suisse
3. Department of Genetic Medicine, Geneva Medical School, Geneva, Geneve, Suisse
4. Cell Biology Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, USA
5. Département de génétique, CHU DIJON, DIJON, France
6. Département de génétique, CHU DIJON, DIJON, France
7. Department of Genetic Medicine and Development, Geneva Medical School, Geneva, Switzerland, Geneva Medical School, Geneve, Suisse
8. département de genetique, CHU DIJON, DIJON, France
9. Département de Génétique, CHU DIJON, DIJON, France
10. Department of Genetic Medicine and Development, Geneva Medical School, Geneva, Geneve, Suisse

**Auteur correspondant :** Callier Patrick (patrick.callier@chu-dijon.fr)

Le syndrome chondrodysplasie-pseudohermaphrodisme (MIM 600092) est un syndrome de transmission autosomique récessive qui a été rapporté chez deux enfants d'une même fratrie dans la littérature [Nivelon et al., 1992]. Ces deux enfants ont le même phénotype avec une chondrodysplasie généralisée (micromélie, raccourcissement des métacarpiens et phalanges, anomalies vertébrales, thorax en cloche, épaississement de la voûte crânienne, raccourcissement des côtes, des péronés, des ailes iliaques), des anomalies oculaires, une dysmorphie (rétrécissement palpébral, enfoncement des orbites, épicanthus, oreilles larges), une microcéphalie et une hypoplasie cérébelleuse. Le premier enfant présentait en outre une ambiguïté sexuelle, avec des organes génitaux externes féminins et des organes génitaux internes hypoplasiques féminins, malgré un caryotype 46,XY et un gène SRY normal. La seconde grossesse a été interrompue à 28 semaines du fait de l'existence d'anomalies osseuses à l'échographie. Le fœtus, de caryotype féminin (46,XX) présentait un phénotype identique au cas index, sans ambiguïté sexuelle. Jusqu'à aujourd'hui l'étiologie génétique de ce syndrome était encore inconnue et aucun cas similaire n'a encore été décrit dans la littérature.

Nous rapportons pour la première fois dans une pathologie humaine l'implication du gène HHAT (Hedgehog acetyltransferase) grâce la technique de séquençage haut-débit. Technique qui a été réalisé sur un Hiseq 2000 (Illumina) avec une analyse d'exome. Pour identifier le gène causal de ce syndrome nous avons séquencé les parents et le probant avec une recherche de gène candidats se transmettant sur un mode autosomique récessif. Après analyse des variants et en appliquant différents filtres il est apparu que parmi les 13 gènes mutés qui étaient compatibles avec une pathologie récessive seulement un gène présentait un quality score maximum. Il s'agit d'une mutation homozygote (c.G449T :p.G287V) du gène HHAT chez le probant et hétérozygote chez les parents, mutation faux-sens confirmé par la méthode Sanger. HHAT est une protéine qui catalyse l'attachement du palmitate à la protéine hedgehog impliquée dans le signal sonic hedgehog (Shh). L'attachement du palmitate et du cholestérol sont indispensables pour le signal court ou long de la voie Shh. Les études fonctionnelles ont montré que la palmitoylation du mutant G287V HHAT est abolie in vitro et que le signal SHH est diminué. Le phénotype du patient est similaire à la souris knockout (KO) avec le gène homologue skn ce qui indique que HHAT joue un rôle essentiel dans le développement humain. De plus cette souris KO montre une

létalité précoce avec un nanisme avec chondrodysplasie, holoprosencéphalie et oligodactylie. Ces données suggèrent que HHAT est le gène responsable de ce syndrome, du fait de l'expression, de la fonction du gène HHAT et de la modification de la palmitoylation.

**Mots-clés :** HHAT, Chondrodysplasie-pseudohermaphrodisme, Séquençage haut-débit

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D052/#183

### Implication d'anomalies moléculaires de TNFRSF11A dans les maladies autoinflammatoires

Isabelle Jéru (1), Emmanuelle Cochet (2), Philippe Duquesnoy (1), Véronique Hentgen (3), Bruno Copin (1), Maria Teresa Mitjavila Garcia (4), Shayan Sheykholeslami (1), Gaëlle Le Borgne (1), Florence Dastot-Le Moal (2), Sonia Karabina (1), Mathieu Mahevas (5), Sandra Chantot-Bastarud (2), Laurence Faivre (6), Serge Amselem (1)

1. UMR\_S933, INSERM, Paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. CeRéMAI, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France
4. UMR\_S935, INSERM, Villejuif, France
5. Service de Médecine Interne, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
6. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital d'Enfants de Dijon, Dijon, France

**Auteur correspondant :** Jéru Isabelle (isabelle.jeru@trs.aphp.fr)

**Introduction.** Les maladies autoinflammatoires sont dues à un défaut de la réponse immunitaire innée. Parmi elles, les fièvres récurrentes héréditaires (FRH) se caractérisent par des épisodes récurrents de fièvre et une inflammation systémique conduisant à des manifestations inflammatoires affectant de nombreux tissus. Il existe peu de critères objectifs pour le diagnostic de ces maladies. Le but de cette étude était d'identifier un nouveau gène de FRH.

**Résultats.** Une analyse CGH réalisée chez un individu présentant une FRH et des anomalies congénitales multiples a mis en évidence un réarrangement chromosomique correspondant à une inversion duplication délétion (inv dup del(18q)) survenue de novo avec duplication intéressant le locus TNFRSF11A et délétion terminale 18q. Le récepteur TNFRSF11A est connu pour activer la voie NF-κB de l'inflammation et son rôle dans la régulation de la fièvre a été démontré chez les rongeurs. Le criblage de ce gène chez des patients présentant des manifestations inflammatoires similaires à celles du cas index a permis d'identifier une mutation hétérozygote décalant le cadre de lecture (p.Met416Cysfs\*110) chez une patiente et sa mère malade. Des études de cytométrie en flux sur les cellules de ces patientes ont montré une expression normale du TNFRSF11A. Par contre des essais luciférase ont révélé que cette mutation altère le fonctionnement du récepteur sur la voie NF-κB. Le tableau clinique des patients investigués ici présente des similitudes marquantes avec le syndrome TRAPS, une autre FRH due à des mutations d'un gène de la même famille (TNFRSF1A).

**Discussion.** L'implication du TNFRSF11A dans les FRH souligne le rôle clé de ce récepteur dans la réponse immunitaire innée. Cette étude apporte également un nouvel outil moléculaire pour le diagnostic des FRH.

**Mots-clés :** maladie autoinflammatoire, fièvre récurrente héréditaire, TNFRSF11A



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D053/#188

### Diagnostic moléculaire du déficit en fructose-1,6-bisphosphatase

Elise Lebigot (1), Mokhtar Zater (1), François Feillet (2), Hélène Ogier de Baulny (3), Loïc de Parscau du Plessix (4), Pascale de Lonlay (5), Patrice Théron (1), Audrey Boutron (1)

1. Laboratoire de biochimie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, CHU Brabois Enfants, Vandœuvre-lès-Nancy, France
3. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Département de pédiatrie et génétique médicale, CHU Morvan, Brest, France
5. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Necker, Paris, France

**Auteur correspondant :** Lebigot Elise (eliseleb12@gmail.com)

La fructose-1,6-bisphosphatase catalyse, de façon irréversible, l'hydrolyse du fructose-1,6-bisphosphate en fructose-6-phosphate et phosphate inorganique. Elle est codée par 2 gènes : FBP1 constitué de 7 exons (31 kb), codant pour une protéine de 338 acides aminés exprimée dans le foie et le rein, et FBP2 qui code pour une protéine musculaire. Le déficit en fructose-1,6-bisphosphatase est une maladie de transmission autosomique récessive. Cette enzyme de la néoglucogénèse participe au maintien de la glycémie lors du jeûne. Le déficit enzymatique se traduit par des hypoglycémies de jeûne court avec acidocétose et hyperlactacidémie. Le traitement de la maladie repose sur l'éviction du jeûne, et si nécessaire, le resucrage par du glucose à l'exclusion des autres sucres.

Nous rapportons ici l'ensemble des patients diagnostiqués en France depuis 2000, soient 12 enfants. Les données cliniques ont été analysées mettant en évidence des symptômes parfois peu évocateurs de la maladie, qui reste très rare. Le diagnostic biologique a été réalisé par le dosage enzymatique sur lymphocytes par méthode spectrophotométrique dont la sensibilité est sujette à controverse. Afin de proposer une alternative à la biopsie hépatique pour les cas difficiles, l'étude moléculaire du gène FBP1 a donc été développée. La recherche de mutations sur le gène FBP1 est réalisée par séquençage direct de l'ADN génomique (ADNg) dans un premier temps puis de l'ADN complémentaire (ADNc) si nécessaire. En complément, il est parfois réalisé un dosage génique par PCR quantitative et une étude de délétion intragénique par PCR long-range. Onze des douze patients ont pu être analysés pour le gène FBP1. Nous avons identifié onze mutations différentes réparties sur 19 allèles, dont 7 nouvelles : une mutation faux-sens, une délétion/insertion, une grande délétion, une duplication nucléotidique et deux mutations introniques. Parmi les mutations déjà décrites, la mutation p.Glu229\* de l'exon5 décrite dans une famille marocaine, est retrouvée à l'état homozygote chez 3 de nos patients tous originaires du Maroc et non apparentés, associée de plus à un polymorphisme unique sur l'exon 5 (p.Arg218Lys). La recherche d'un effet fondateur en déterminant l'haplotype commun dans ces familles permettrait un screening rapide pour cette population. Pour 3 allèles, l'identification de l'anomalie moléculaire n'a pas encore été confirmée. En conclusion de cette étude rétrospective, pour tous les cas de déficits enzymatiques en fructose-1,6-bisphosphatase mis en évidence sur lymphocytes (n=11), au moins une anomalie moléculaire a été identifiée. Par contre, en l'absence de déficit enzymatique, même en présence d'une très forte suspicion clinique et biologique (n=23), aucune anomalie moléculaire n'a été mise en évidence sur le gène FBP1.

**Mots-clefs :** FBP1, Acidose métabolique, Déficit de la néoglucogénèse

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D054/#197

### REPS1 est un nouveau gène de neurodégénérescences avec accumulation de fer dans le cerveau (NBIA)

ANTHONY DRECOURT (1), NATHALIE BODAERT (2), ISABELLE DESGUERRE (3), DOMINIQUE CHRETIEN (1), ARNOLD MUNNICH (1), AGNES ROTIG (1)

1. INSERM U781, HOPITAL NECKER ENFANTS MALADES, PARIS, France
2. IMAGERIE MEDICALE, HOPITAL NECKER ENFANTS MALADES, PARIS, France
3. NEUROPEDIATRIE, HOPITAL NECKER ENFANTS MALADES, PARIS, France

**Auteur correspondant :** ROTIG AGNES (agnes.rotig@inserm.fr)

Les neurodégénérescences avec accumulation de fer dans le cerveau (NBIA) englobent un ensemble de maladies neurodégénératives rares transmises sur un mode autosomique récessif ou lié à l'X. Ce groupe hétérogène de maladies peut être différencié par des caractéristiques d'IRM, clinique et moléculaire. Les NBIA sont caractérisées par un dysfonctionnement extrapyramidal progressif (dystonie, rigidité, choréoathétose) ainsi une accumulation de fer dans le cerveau, principalement dans les noyaux gris centraux.

À ce jour, des mutations des gènes PANK2, PLA2G6, FA2H, ATP13A2, C2orf37, CP, FTL et WDR45 ont été associées aux NBIA. Le gène majeur de NBIA est PANK2 qui code pour la Pantothénate Kinase Associated Neurodegeneration PKAN2. Les patients atteints de NBIA sans cause moléculaire identifiée sont classés dans le groupe des NBIA idiopathique. Plusieurs gènes de NBIA sont encore à identifier pour beaucoup de patients atteints de NBIA idiopathique.

Nous avons réalisé un séquençage de type exome chez deux sœurs atteintes de NBIA et avons identifié deux mutations hétérozygotes du gène REPS1 codant pour la protéine RALBP1 associated Eps domain containing 1. Reps1 est impliqué dans l'endocytose et les deux mutations (p.Ala113Glu et p.Val78Leu) sont situées dans le domaine EH1 qui interagit avec Rab11-FIP2. La fonction de Reps1 dans le métabolisme du fer est actuellement inconnue, mais son partenaire protéique, RabB11-FIP2, est impliqué dans le recyclage de la transferrine. Nous avons observé une diminution de la protéine Reps1 dans les fibroblastes de patients par Western blot malgré une quantité normale de transcrite du gène. Ceci indique que les mutations de Reps1 pourrait induire un mauvais repliement de la protéine et sa dégradation.

Nous avons étudié le métabolisme du fer ainsi que le stress oxydant dans les fibroblastes de patients. Le dosage colorimétrique à la Ferrozine nous a permis de détecter une augmentation spectaculaire des niveaux de fer dans les fibroblastes de patients. Nous avons également observé une augmentation de la ferritine cytosolique ainsi que de l'Iron Responsive Protein 1 (IRP1) suggérant une accumulation de fer dans les cellules. De plus, la quantité de SOD2 est fortement augmentée suggérant une surproduction de radicaux libres. Enfin nous avons observé une diminution spectaculaire de l'activité totale des aconitases (cytosolique et mitochondriale) dans les fibroblastes de patient. Tous ces résultats indiquent que les mutations de Reps1 induisent une dérégulation du métabolisme du fer et un stress oxydatif. En conclusion, nous avons identifié un nouveau gène de NBIA, REPS1. La suite de notre travail permettra d'investiguer les mécanismes physiopathologiques de cette maladie et d'éventuelles pistes thérapeutiques.

**Mots-clefs :** Neurodégénérescence, surcharge en fer, endocytose

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D055/#200

### Mutation du gène MRPP1 codant une sous-unité du complexe RNaseP mitochondrial chez un patient avec encéphalopathie et anomalie d'assemblage de la chaîne respiratoire

METODI METODIEV (1), ZAHRA ASSOULINE (2), MARLENE RIO (2), ARNOLD MUNNICH (1), AGNES ROTIG (1)

1. INSERM U781, HOPITAL NECKER ENFANTS MALADES, PARIS, France  
2. SERVICE DE GENETIQUE, HOPITAL NECKER ENFANTS MALADES, PARIS, France

**Auteur correspondant :** ROTIG AGNES (agnes.rotig@inserm.fr)

La chaîne respiratoire (CR) mitochondriale comporte cinq complexes constitués de sous-unités codées d'origine nucléaire ou mitochondriale. Le génome mitochondrial (ADNmt) code 13 protéines de la chaîne respiratoire mais aussi deux ARN ribosomiaux (ARNr) et 22 ARN de transfert (ARNt). La transcription de l'ADNmt génère un long transcrit polycistronique clivé par la suite par une RNaseP et une RNaseZ aux extrémités 5' et 3' des ARNt respectivement conduisant à la formatin des ARN messagers, des ARNt et des ARNr. La RNaseP est composée de trois sous-unités MRPP1, MRPP2 et MRP3. L'extinction de ces trois gènes conduit à une inactivation de la RNaseP et à une diminution des ARNm, ARNt, ARNr mitochondriaux matures. MRPP1 et MRPP2 permettent également la N1-méthylation des purines en position 9 de plusieurs ARNt. De plus MRPP2 est une déshydrogénase/réductase impliquée dans la b-oxydation des acides gras à chaîne courte.

Nous avons réalisé un séquençage exome dans une série de patients avec déficit multiple de la CR sans anomalie quantitative ou qualitative de l'ADNmt. Ceci nous a permis d'identifier chez un patient une mutation homozygote du gène MRPP1 conduisant à la modification p.Arg181Leu dans la séquence protéique. Ce patient est une fille née de parents consanguins d'origine turque. Elle a présenté des difficultés alimentaires dès un mois de vie et a ensuite développé une hypotonie axiale, un nystagmus et une cardiomyopathie hypertrophique. Elle montrait également une hyperlactacidémie et une hyperlactatorachie et est décédée à 5 mois. Une étude de la CR a mis en évidence un déficit des complexes I et IV dans le muscle, le foie et le cœur. Enfin les fibroblastes montraient un défaut d'assemblage des complexes de la CR. L'analyse en Northern blot d'ARN de fibroblastes montrait des taux de transcrit mitochondriaux normaux suggérant que la mutation n'affecte pas l'activité RNaseP. L'analyse de la méthylation en position G9 et A9 des ARNt n'est pas non plus modifiée. L'étude de l'interaction de la protéine MRPP1 mutée avec MRPP2 et MRPP3 est en cours de même que la validation fonctionnelle de cette mutation par transfection de l'ADNc normal dans les cellules de patients.

Nous rapportons ici la première mutation du gène MRPP1 et le premier déficit de RNaseP mitochondriale. Ces résultats montrent d'autre part l'intérêt et la force du séquençage exome qui permet d'identifier le gène muté d'un cas sporadique.

**Mots-clés :** mitochondrie, RNaseP mitochondriale, assemblage de la chaîne respiratoire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D056/#205

### Les mutations des protéines ribosomales mitochondriales MRPS5 et MRPS28 conduisent à des phénotypes cliniques différents

JULIETTE PULMAN (1), METODI METODIEV (1), CAMILLE LOUVRIER (1), ZAHRA ASSOULINE (2), DOMINIQUE CHRETIEN (1), MARLENE RIO (2), ARNOLD MUNNICH (1), AGNES ROTIG (1)

1. INSERM U781, HOPITAL NECKER ENFANTS MALADES, PARIS, France  
2. SERVICE DE GENETIQUE, HOPITAL NECKER ENFANTS MALADES, PARIS, France

**Auteur correspondant :** ROTIG AGNES (agnes.rotig@inserm.fr)

L'hétérogénéité clinique des maladies mitochondriales rend l'identification de leurs gènes de plus en plus difficile et empêche de réaliser des études par groupes de patients. Le séquençage haut débit de type exome se révèle alors être la seule solution pour identifier les gènes en cause dans ces maladies. Nous avons réalisé un séquençage de type exome chez plusieurs patients et avons identifié des mutations dans deux gènes de protéines ribosomales chez des patients présentant des atteintes cliniques très différentes.

Le premier patient est un garçon né de parents non consanguins. Il a très rapidement présenté un ictère, une défaillance hépatique, une hypotonie et une hyperlactacidémie. Il est décédé à 7 mois de vie. L'étude la chaîne respiratoire a mis en évidence un déficit multiple dans le foie mais des activités normales dans le muscle et les fibroblastes. Le séquençage exome a détecté une mutation homozygote dans le gène MRPS5 codant pour une protéine de la petite sous-unité du mitoribosome conduisant à la modification p.Ala363Thr à une position très conservée.

Le deuxième patient est un garçon né de parents non consanguins. Il présente un retard psychomoteur, une dysmorphie, une cataracte, une surdité et une petite taille. L'étude de la chaîne respiratoire mitochondriale a mis en évidence un déficit du complexe IV dans le muscle et les fibroblastes. L'étude de l'assemblage de la chaîne respiratoire dans les fibroblastes en conditions natives avait montré un défaut quantitatif et qualitatif des complexes I et IV. Le séquençage exome a mis en évidence une seule mutation homozygote du gène MRPS28 codant pour une protéine de la petite sous-unité du mitoribosome (p.Lys119Arg). La suite du travail a montré que le père était porteur d'une délétion emportant plusieurs exons de MRPS28.

Plusieurs mutations de protéines ribosomales ont été rapportées le plus souvent chez un seul patient rendant les corrélations génotype-phénotype impossible à établir. En revanche un point commun à toutes ces mutations est qu'elles conduisent à un défaut d'assemblage de la sous-unité ribosomale à laquelle elles appartiennent et éventuellement de tout le ribosome mitochondrial. Ceci s'est vérifié chez nos deux patients puisque nous avons observé une diminution de plusieurs protéines de la petite sous-unité du mitoribosome.

Ces résultats confirment l'extrême hétérogénéité clinique et génétique des maladies mitochondriales, en particulier de celles liées à la traduction mitochondriale, et montrent l'intérêt et la puissance du séquençage exome réalisé sur des cas sporadiques.

**Mots-clés :** mitochondrie, mitoribosome, traduction mitochondriale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D057/#208

### Mosaïcisme révertant dans le premier cas d'Epidermolyse Bulleuse Simple récessive du à des mutations du gène KRT5 entraînant une perte de fonction

Matthias TITEUX (1), Nathalie PIRONON (1), Sandrina TURCZYNSKI (1), Elodie TRON (2), Alain HOVNANIAN (3)

1. Inserm U781, Institut Imagine - Université Paris V, PARIS, France
2. Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
3. Inserm U781 - Institut Imagine - Université Paris V, Département de Génétique - Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France

**Auteur correspondant :** Hovnanian Alain (alain.hovnanian@inserm.fr)

Les épidermolyses bulleuses simples (EBS) sont des maladies génétiques cutanées caractérisées par la survenue de décollements cutanés intra-épidermiques après un léger traumatisme. La plupart des cas d'EBS sont dus à des mutations faux-sens des gènes KRT5 ou KRT14 codant les kératines 5 et 14, agissant de façon dominante. De rares cas de formes récessives dues à des mutations du gène KRT14 ont été également rapportés. Nous décrivons le cas d'une jeune patiente de 3 ans issue d'une union non consanguine, ayant présenté des décollements bulleux sévères et étendus dès la naissance. L'évolution a été marquée par une amélioration partielle durant l'enfance et l'apparition de multiples zones de peau apparemment saine, non systématisées. Le séquençage direct du gène KRT5 à partir d'ADN de sang périphérique a révélé la présence chez la patiente de deux mutations récessives conduisant à une perte de fonction par décalage du cadre de lecture et apparition de codons stop prématurés : 1) une délétion de 2pb dans l'exon 3 héritée de la mère ; 2) une transition T>C située dans l'intron 2 à distance des sites consensus d'épissage, héritée du père. Cette dernière altère l'épissage de l'ARN pré-messager de KRT5 et provoque l'inclusion d'un pseudo-exon par déséquilibre de fixation de facteurs d'épissage des familles SR et hnRNP. L'analyse par western-blot des protéines extraites des kératinocytes de la patiente montre la présence de kératine 5 de taille normale en quantité très diminuée, indiquant que la mutation d'épissage de l'intron 2, permet la synthèse d'une quantité limitée de protéine sauvage. Nous montrons que la modulation de l'épissage de KRT5 à l'aide d'oligonucléotides anti-sens ciblant la mutation intronique permet de restaurer l'expression de l'ARNm de KRT5 et de kératine 5 sauvage (47% du taux normal). De manière remarquable, l'analyse de zones cutanées apparemment « saines » montre la présence de mutations somatiques révertantes supprimant la mutation intronique paternelle ré-exprimant la kératine 5. Il s'agit du premier cas rapporté d'EBS récessive due à des mutations entraînant une perte de fonction du gène KRT5 et de la première observation de mosaïcisme de réversion dans une EBS récessive. Ces résultats ont d'importantes implications thérapeutiques pour la patiente.

**Mots-clefs :** Epidermolyse bulleuse simple, keratine 5, mosaïcisme revertant

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D058/#209

### Le chien, un modèle spontané de rétinites pigmentaires humaines : exemple de l'atrophie progressive de la rétine chez le Border collie.

Morgane Bunel (1), Gilles Chaudieu (2), Estèle Lafont (3), Amandine Olivier (1), Anne Thomas (4), Quignon Pascale (1), Catherine André (1)

1. UMR6290 CNRS Université de Rennes1, Institut de génétique et développement de Rennes, Rennes, France
2. , Clinique vétérinaire, Chamalières, France
3. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Centre de Biologie et Pathologie Est - Groupement hospitalier Est, Bron, France
4. Antagène, Animal Genetics Laboratory, La Tour de Salvagny, France

**Auteur correspondant :** André Catherine (catherine.andre@univ-rennes1.fr)

Chez l'Homme, les rétinites pigmentaires (RP) représentent un groupe hétérogène de dégénérescence des photorécepteurs de la rétine. A ce jour, plus de 80 gènes impliqués dans le cycle visuel ont déjà été identifiés comme impliqués dans les RP. Au total, plus de 4200 mutations ont été reportées dans ces gènes, pour des RP non syndromiques et syndromiques. Cependant, environ 40% des causes génétiques de RP restent à déterminer. Le chien développe spontanément des maladies homologues, appelées Atrophies Progressives de la Rétine (APR) qui, comme les RP, mènent à la cécité. Ainsi, plus de 100 races canines sont touchées par des APR. Comme chez l'Homme, ces APR sont très hétérogènes sur le plan génétique, mais elles sont très homogènes au sein d'une race donnée. En général, chaque race touchée présente une forme d'APR spécifique reflétant un événement génétique fondateur à la création de la race. Chez le chien, le diagnostic est réalisé par une analyse du fond d'œil et, si nécessaire, une électrorétinographie.

Ces 10 dernières années, la découverte de plusieurs gènes impliqués à la fois dans les RP humaines et les APR canines démontre l'intérêt du modèle canin. Ainsi, l'étude génétique des différentes APR chez le chien permettrait de découvrir de nouveaux gènes, ceux-ci devenant de bons gènes candidats pour les RP humaines. L'étude clinique et épidémiologique de cette rétinopathie chez le Border collie a mis en évidence un mode de transmission lié au chromosome X (Chaudieu 2001 ; Vilboux et al., 2008). Plus récemment, nous avons estimé la fréquence de la maladie à 16% pour les mâles et 2% pour les femelles. Des échantillons sanguins de 700 Border collies ont été collectés et leurs ADN extraits. Une première analyse de liaison avait été réalisée avec 65 marqueurs microsatellites sur un pedigree de 255 chiens et une région de 12Mb sur le chromosome X avait été identifiée. Quatorze gènes candidats situés dans ce locus ont ensuite été testés et exclus, ainsi que les mutations du gène RPGR (XLPRA1 et XLPRA2). Récemment, une analyse d'association sur 85 chiens génotypés sur la puce 170 000 SNP (« Canine HD array », Illumina) a mis en évidence, en plus du chromosome X, plusieurs autres loci sur des autosomes. Par ailleurs, le gène VMD2, codant la protéine BEST 1 qui est un modulateur de rétinopathies dans d'autres races a également été testé, mais aucune mutation n'a été mise en évidence chez les Border collies atteints. L'analyse des génotypes sur puce 170 000 SNP de 80 chiens (46 atteints, 34 atteints dont 28 mâles et 6 femelles) appartenant à un nouveau pedigree de 156 Border collies est en cours. L'identification du gène impliqué dans l'APR du Border collie apportera un nouveau candidat pour les RP liées à l'X chez l'homme.

Références:

- Chaudieu G. 2001. Prat Méd Chir Anim Comp 36 :55-73  
Vilboux T. et al. 2008. BMC Vet Res 4(10)

**Mots-clefs :** rétinites pigmentaires, modèle chien, transmission liée à l'X

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D059/#213

### Amyotrophie Spinale Infantile : étude moléculaire et conseil génétique à propos de 38 familles tunisiennes

Nourhene Gharbi (1), Bochra Ben Rhouma (2), Ikhlas Ben Ayed (3), Fatma Abdelhédi (4), Rim Keskes (5), Neila Belghith (4), Hassen Kammoun (4)

1. Génétique médicale, CHU Hédi Chaker - Sfax, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de médecine, Sfax, Tunisie
3. Service de génétique médicale, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
4. Service de génétique médicale - Laboratoire de génétique moléculaire humaine, CHU Hédi Chaker - Faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
5. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Gharbi Nourhene (nourhene.gharbi@yahoo.fr)

#### Introduction

L'amyotrophie spinale (AMS) est une maladie neuromusculaire caractérisée par une dégénérescence des motoneurons  $\alpha$  de la corne antérieure de la moelle épinière responsable d'une atrophie musculaire et d'une hypotonie paralytique. On distingue 4 formes cliniques définies selon l'âge d'apparition de la symptomatologie, l'intensité des troubles moteurs et l'évolutivité de la maladie. Le type I (maladie de Werdenig-Hoffman) est de loin la plus fréquente (60 à 70%) et la plus sévère.

Cette affection est transmise selon le mode autosomique récessif. Son gène déterminant est SMN1, localisé en 5q12. Il s'agit d'une région dupliquée et inversée. La copie centromérique SMN2 est peu fonctionnelle. La mutation la plus commune (95% des cas) est la délétion homozygote de l'exon 7 du gène SMN1 associée ou non à la délétion de l'exon 8.

#### Objectif

L'objectif de ce travail est de décrire l'intérêt de la PCR-RFLP des exons 7 et 8 du gène SMN1 pour faire un diagnostic rapide de l'AMS permettant de donner un conseil génétique et de proposer à temps un diagnostic prénatal.

#### Patients et méthodes

Notre étude est rétrospective menée sur une période de 12 ans allant de l'année 2001 jusqu'à l'année 2013. Nous avons colligé 38 patients appartenant à des familles différentes, dont les données cliniques et paracliniques nous ont orientés vers le diagnostic de l'AMS. Une PCR-RFLP des exons 7 et 8 du gène SMN1 a été réalisée pour tous les patients suivie par une digestion enzymatique moyennant les enzymes de restrictions Dral et Ddel respectivement.

#### Résultats

Dans notre série une prédominance féminine a été notée : le sex-ratio (H/F) est de 0.7. Les signes cliniques sont dominés par une hypotonie axiale et périphérique avec atrophie musculaire. La maladie est de type (I) dans 87 % des cas, de type (II) dans 5% des cas et de type (III) dans 8 % des cas.

La délétion de l'exon 7 et de l'exon 8 a été retrouvée chez 26 patients (68%) confirmant le diagnostic d'AMS. Pour les autres patients, et devant le tableau clinique très évocateur, nous comptons chercher des éventuelles mutations ponctuelles du gène SMN.

Un diagnostic prénatal a été réalisé pour 14 familles et l'interruption thérapeutique de la grossesse a été réalisée chez 4 patientes.

#### Conclusion

L'amyotrophie spinale est une maladie neuromusculaire fréquente et grave engageant le pronostic vital. Un diagnostic rapide pour le cas index est envisagé et un diagnostic anténatal doit être proposé à toutes les familles ayant un enfant atteint.

**Mots-clefs :** Amyotrophie spinale infantile, gène SMN, PCR-RFLP

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D060/#218

### Identification de la mutation R110>C du gène NOTCH3 chez une patiente marocaine atteinte du syndrome CADASIL

Saadia Amasdl (1), Ilham Ratbi (1), Eliecer Coto Garcia (2), Rachid Mossadeq (3), Abdelaziz Sefiani (1)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
2. Unité de génétique clinique et moléculaire, Hôpital universitaire central de Asturias, Oviedo, Espagne
3. Cabinet médical, Neurologie, Témara, Maroc

**Auteur correspondant :** Amasdl Saadia (saadia-manara@hotmail.com)

Syndrome CADASIL ou artériopathie cérébrale avec infarctus sous corticaux et leucoencéphalopathie, est une maladie génétique rare de transmission autosomique dominante. Il débute entre 20 et 40 ans, et se caractérise cliniquement par des crises de migraine avec aura suivies par l'installation d'un ou plusieurs accidents ischémiques cérébraux, et des troubles cognitifs et psychiatriques. L'IRM cérébrale est essentielle au diagnostic de la maladie et met en évidence des hypersignaux de la substance blanche, des infarctus de type lacunaire et parfois des micro-saignements.

Syndrome CADASIL est lié à des mutations du gène NOTCH3 en 19p13.12. La majorité des mutations sont localisées au niveau des exons 3 et 4. La plupart des altérations de ce gène sont des mutations faux sens (95%) entraînant perte ou gain d'un résidu cystéine.

Nous rapportons l'observation d'une patiente âgée de 52 ans, non consanguine suivie depuis 4 années pour une angéite cérébrale primitive avec des lésions vasculaires ischémiques. Son père est décédé à l'âge de 62 ans d'une encéphalite hypertensive avec une atrophie cortico-sous corticale. L'étude moléculaire du gène NOTCH3 par PCR-séquençage direct des exons 3 et 4, a permis d'identifier chez la patiente la mutation R110>C (CGT>TGT) au niveau de l'exon 3 à l'état hétérozygote.

La confirmation du diagnostic du syndrome CADASIL nous a permis d'adapter la prise en charge médicale de la patiente et de prodiguer un conseil génétique aux apparentés à risque.

**Mots-clefs :** artériopathie cérébrale, CADASIL, NOTCH3



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D061/#219

### La myotonie congénitale de Becker : étude clinique et moléculaire de deux familles marocaines

wafaa Jdioui (1), Ilham Ratbi (2), Yamna Kriouile (3), Siham Chafai Elalaoui (4), Jesus Molano (5), Abdelaziz Sefiani (1)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, Maroc
3. Service de pédiatrie IIA, Hôpital d'enfants, Rabat, Maroc
4. Département de génétique médicale, Institut national d'hygiène, Rabat, Maroc
5. Unité de génétique moléculaire, Institut de génétique médicale et moléculaire Hôpital universitaire La Paz, Madrid, Espagne

**Auteur correspondant :** Jdioui Wafaa (wafaa317@hotmail.com)

La myotonie congénitale de Becker est une maladie génétique musculaire rare de transmission autosomique récessive. Sa prévalence est estimée à 1/20 000. Elle est caractérisée par un syndrome myotonique associé à des douleurs, une fatigabilité, une hypertrophie musculaire et des raideurs articulaires. Le diagnostic clinique est facilement confirmé par l'examen électromyographique (EMG) qui montre des décharges myotoniques en rapport avec l'état d'hyperexcitabilité de la membrane de la fibre musculaire. La myotonie de Becker est due à des mutations du gène CLCN1 en 7q35, conduisant à une perte de fonction du canal chlore, dont le rôle est de faciliter la repolarisation de la cellule musculaire.

Nous rapportons l'observation de deux familles marocaines consanguines de premier degré, ayant chacune, deux enfants présentant un syndrome myotonique clinique et électrique, à caractère autosomique récessif. L'étude moléculaire du gène CLCN1 a montré que les patients de la 1ère famille sont homozygotes pour la mutation p.Gly482Arg. Pour la 2ème famille, une nouvelle mutation homozygote p.Gly188Val à prédiction délétère in silico, a été identifiée.

La confirmation du diagnostic de myotonie de Becker nous a permis de proposer une prise en charge adaptée aux patients et de prodiguer un conseil génétique aux familles.

**Mots-clefs :** Myotonie congénitale de Becker, Autosomique récessif, Gène CLCN1

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D062/#220

### Nouvelle mutation c.1581G>C du gène FGFR2 chez un enfant marocain atteint de la maladie de Crouzon

wafaa Jdioui (1), Imane Cherkaoui Jaouad (2), Corinne Collet (3), Abdelaziz Sefiani (1)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique médicale, Institut national d'hygiène, Rabat, Maroc
3. Service de Biochimie et Biologie moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Jdioui Wafaa (wafaa317@hotmail.com)

Le syndrome de Crouzon est une maladie génétique rare à transmission autosomique dominante. Sa prévalence est estimée à 2/100 000. Elle est caractérisée par une crâniosténose, une dysmorphie faite d'un hypertélorisme, une exophtalmie, un strabisme externe, une lèvre supérieure courte, une hypoplasie maxillaire et un prognathisme. La synostose crânienne apparaît vers l'âge de deux ans et s'aggrave progressivement. Les principales complications sont représentées par l'hydrocéphalie, l'engagement des amygdales cérébelleuses, l'hypertension intracrânienne avec risque de cécité. Sur le plan moléculaire, la maladie de Crouzon est due à des mutations du gène FGFR2 en 10q26.13.

Nous rapportons l'observation d'une patiente marocaine âgée de trois ans, troisième d'une fratrie de trois, non consanguine, qui nous a été adressée pour crâniosténose avec syndrome dysmorphique.

L'examen clinique et le bilan radiologique sont en faveur d'une scaphocéphalie suite à une fermeture précoce des différentes sutures et de la fontanelle antérieure, associée à des signes d'hypertension intracrânienne.

Une analyse moléculaire du gène FGFR2 par PCR séquençage direct a montré que la proposante est porteuse de la mutation c.1581G>C (p.Leu617Phe) de l'exon 15 du gène FGFR2 à l'état hétérozygote. Cette mutation n'a jamais été décrite dans la littérature, elle est considérée comme pathogène selon plusieurs logiciels de prédiction. Cette mutation est absente chez les parents du propositus.

A travers cette observation, nous montrons l'intérêt de l'analyse moléculaire pour confirmer le diagnostic et prodiguer un conseil génétique adéquat

**Mots-clefs :** Maladie de Crouzon, Gène FGFR2, Nouvelle mutation p.Leu617Phe

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D063/#221

### Les mutations du gène PKHD1 sont responsables de la maladie de Caroli ainsi que d'un large spectre de malformations de la plaque ductale de transmission récessive.

Jean-Benoît Courcet (1), Anne Minello (2), Fabienne Prieur (3), Laurent Morisse (4), Alain Beurdeley (5), Daniel Meynard (6), Nadège Gigot (7), Judith St Onge (7), Emmanuel Jacquemin (8), Patrick Hillon (2), Christel Thauvin (1), Jean-Pierre Cercueil (9), Boris Guiu (10), Jean-Baptiste Rivière (7), Laurence Michel-Calemard (11), Laurence Faivre (1)

1. Service de pédiatrie 1 et de génétique médicale, Hôpital d'enfants, CHU, Dijon, France
2. Service d'hépatogastro-entérologie, CHU, Dijon, France
3. Service De Génétique Clinique Chromosomique et Moléculaire, CHU, Saint-Priest-En-Jarez, France
4. Service de médecine polyvalente, Hôpital de SIA, Wallis et Futuna, Uvéea, France
5. Service de chirurgie, Hôpital de Sia, Wallis et Futuna, Uvéea, France
6. Laboratoire de biologie médicale, Hôpital de SIA, Wallis et Futuna, Uvéea, France
7. Laboratoire de biologie moléculaire, CHU, Dijon, France
8. Service d'hépatologie pédiatrique, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
9. Service de radiologie, CHU, Dijon, France
10. Service de radiologie, CHU, Dijon, France
11. Service d'endocrinologie moléculaire et maladies rares, Centre de Biologie et Pathologie Est CHU de Lyon-GH Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

**Auteur correspondant :** Courcet Jean-Benoît ([jean-benoit.courcet@chu-dijon.fr](mailto:jean-benoit.courcet@chu-dijon.fr))

La maladie de Caroli (MC) est une pathologie congénitale rare dont la fréquence est estimée à 1 / 1000000. Près de 200 cas ont été décrits, dont de très rares cas familiaux. Elle est définie par la présence isolée de dilatations kystiques des voies biliaires intra hépatiques. La MC fait partie du groupe des malformations de la plaque ductale (MPD), tout comme le syndrome de Caroli (SC, association d'une MC et d'une fibrose hépatique congénitale (FHC)), les polykystoses rénales autosomiques récessives (PKRAR) et les complexes de von Meyenburg (CVM) qui sont de petites lésions anatomiques nodulaires kystiques souvent multiples, qui restent asymptomatiques. La cause génétique de la MC demeure inconnue, alors que des mutations du gène PKHD1 sont retrouvées dans les PKRAR et certains cas de SC. Aucune corrélation génotype-phénotype claire n'a pu être mise en évidence, bien que la présence d'un allèle porteur d'une mutation modérée ait été soulevée dans les cas exceptionnels rapportés avec atteinte hépatique prédominante.

Nous avons réalisé un séquençage d'exome au sein d'une fratrie exceptionnelle présentant diverses MPD, comprenant SC chez le cas index, MC chez un frère et CVM isolés asymptomatiques chez une sœur. Cette analyse a retrouvé la présence de mutations hétérozygotes composites du gène PKHD1 : c.10444G>A (p.Arg3482Cys) en cis et c.5521G>A (p.Glu1841Lys) en trans, coségrégeant avec les manifestations cliniques.

Afin de répliquer ces résultats et connaître la fréquence d'implication du gène PKHD1 dans la MC, nous avons séquencé le gène PKHD1 dans 2 autres cas familiaux dont au moins un membre présentait une MC. Les mutations c.931A>G (p.Thr311Ala) en cis et c.8870T>C (p.Ile2957Thr) en trans, également associé au polymorphisme c.8581A>G (p.Ser2861Gly) ont été identifiées chez 2 sœurs, l'une présentant une MC et l'autre une FHC modérée isolée. Les mutations c.10226G>A (p.Asp3409Gly) en cis et c.2489A>G (p.Asn830Ser) en trans ont été identifiées chez 2 frères présentant une MC diffuse. Cette dernière mutation est probablement hypomorphe, ce qui pourrait expliquer le phénotype limité à la MC chez ces deux frères.

En conclusion, nous avons donc démontré dans cette étude la responsabilité du gène PKHD1 dans la MC et d'autres MPD, avec de probables corrélations phénotype-génotype pour ces formes atypiques de manifestations tardives, et avec atteinte hépatique prédominante. Ces données sont importantes dans un but de conseil génétique mais

également de suivi, car les patients porteurs d'une MC sont susceptibles de développer une atteinte rénale tardive. Cette étude montre l'apport considérable du séquençage haut débit d'exome pour élargir le spectre clinique de gènes déjà connus.

**Mots-clefs :** maladie de Caroli, malformation de la plaque ductale, PKHD1

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D064/#222

### L'étude fonctionnelle des mutations faux-sens du gène ABCC8, un outil indispensable au diagnostic des hyperinsulinismes congénitaux.

Cécile Saint-Martin (1), Qing Zhou (2), Christelle Vaury (1), Gwendoline Leroy (1), Séverine Clauin (1), Jean-Baptiste Arnoux (3), Pascale de Lonlay (3), Show-Ling Shyng (2), Christine Bellanné-Chantelot (1)

1. Département de Génétique, AP-HP Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Oregon Health & Science University, Portland, USA
3. Centre de Référence des Maladies Métaboliques Hérititaires, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Saint-Martin Cécile (cecile.saint-martin@psl.aphp.fr)

L'hyperinsulinisme congénital (CHI) caractérisé par une sécrétion inappropriée d'insuline est la principale cause d'hypoglycémie chez le jeune enfant. La classification des CHI repose sur la réponse du patient au diazoxide (DZX), le diagnostic moléculaire et la forme histopathologique. La forme focale correspond à une hyperplasie de quelques îlots de Langerhans alors que la forme diffuse implique l'ensemble des îlots. Les formes résistantes au DZX sont majoritairement associées à des mutations des gènes ABCC8 et KCNJ11 codant pour les sous-unités SUR1 et KIR6.2 du canal potassique sensible à l'ATP (KATP) qui régule la sécrétion d'insuline par les cellules beta du pancréas. Les formes focales sont associées à une mutation hétérozygote du canal KATP d'origine paternelle et à une perte somatique de l'allèle maternel. Les formes diffuses sont dues soit à une inactivation biallélique constitutionnelle soit à la présence d'une mutation dominante du canal. Il est donc indispensable de caractériser les mutations identifiées sur ABCC8 et KCNJ11. Il s'agit de différencier les mutations pathogènes des variants sans impact fonctionnel et de déterminer pour un patient porteur d'une unique mutation à l'état hétérozygote s'il s'agit d'une forme focale (mutation récessive) ou d'une forme diffuse (mutation dominante).

Nous avons étudié 17 cas index avec un diagnostic de forme diffuse de CHI résistante au DZX avec une seule mutation faux-sens hétérozygote du gène ABCC8. Des études in vitro ont été menées afin de tester 1) l'expression des canaux à la membrane plasmique par western blot et immuno-marquage, et 2) les propriétés électrophysiologiques des canaux par enregistrement patch-clamp en « inside-out ».

Quatorze mutations faux-sens différentes du gène ABCC8 ont été identifiées. Les études d'expression montrent qu'à l'exception de R1353P et G1379S, les mutations faux-sens n'altèrent pas l'expression à la membrane de la protéine SUR1. Tous les mutants ont une réponse au MgADP et au DZX fortement diminuée (

L'étude en patch-clamp a ainsi permis de reclasser 2 mutations faux-sens en mutations récessives correspondant probablement à des formes focales non détectées par TEP-SCAN et de confirmer que 12 mutations faux-sens d'ABCC8 identifiées à l'état hétérozygote présentaient les caractéristiques des mutations associées aux formes diffuses dominantes : une expression préservée à la membrane mais des propriétés électrophysiologiques altérées du canal muté. Les conclusions de l'étude fonctionnelle sont essentielles en termes de conseil génétique. Ces résultats permettent de conclure sur la pathogénicité d'une mutation faux-sens et de prédire un risque de récurrence : ¼ pour une forme diffuse porteuse de deux mutations, ½ pour une forme diffuse dominante, 1/1200 pour une forme focale. Cette étude montre qu'il est important de compléter le rendu d'un résultat génétique d'une mutation faux-sens par son analyse fonctionnelle.

**Mots-clefs :** Hyperinsulinisme, Fonctionnel, Canal potassique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D065/#223

### Identification de nouveaux gènes responsables de rétinite pigmentaire autosomique récessive.

Béatrice Bocquet (1), Nour Al Dain Marzouka (1), Maxime Hébrard (1), Gaël Manes (1), Audrey Sénéchal (1), Corinne Baudoin (2), Virginie Marquette (2), Isabelle Meunier (2), Christian Hamel (1)

1. INSERM U1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
2. Centre National de Référence Maladies Rares Maolya, CHU Gui de Chauliac, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** Béatrice BOCQUET Béatrice BOCQUET (beatrice.bocquet@inserm.fr)

**Propos :** Le diagnostic moléculaire des Rétinites Pigmentaires autosomiques récessives (arRP) est à l'heure actuelle un challenge de par la grande hétérogénéité clinique et moléculaire de cette pathologie : à l'heure actuelle, 41 gènes ainsi que 3 loci ont déjà été identifiés pour cette pathologie, expliquant environ 60 % des cas d'arRP. Deux gènes majeurs, USH2A and EYS, sont ensemble responsables de 13 à 19 % des cas, les autres gènes étant moins fréquents. Dans cette étude, nous avons développé une stratégie de recherche de nouveaux gènes/loci causant les arRP dans une série de familles consanguines. **Méthodes :** Des familles consanguines ont été génotypées grâce à des marqueurs microsatellites spécifiques des gènes USH2A et EYS. Les familles résultant de ce premier crible ont été analysées sur puces SNP 250K grâce au logiciel TASE (Transmitted Allele Search Engine). Les gènes connus dans les régions homozygotes définies ont été séquencés. Le séquençage de l'exome complet a été réalisé pour quatre familles.

**Résultats :** 44 familles consanguines ont été analysées. Parmi celles-ci, 14 (soit 32 %) étaient complètement ou partiellement homozygotes pour les marqueurs EYS ou USH2A. Nous avons sélectionné 16 familles sur les 30 restantes pour le génotypage sur puces SNP 250K et cartographie par homozygotie. Nous avons trouvé une mutation causale dans 10 familles (63 %) dans un gène connu (RP1, RLBP1, NR2E3, CNGB1, IMPG2, PDE6A, PDE6B, and C2ORF71). De plus, pour 4 familles, de nouveaux locis potentiels ont été trouvés pour lesquels le séquençage complet de l'exome est en cours d'analyse.

**Conclusion :** Approximativement 63 % des familles consanguines testées ont obtenu un diagnostic moléculaire positif et une approche de gène candidat est en cours pour quelques familles.

**Mots-clefs :** Rétine, Cartographie par homozygotie, Whole Exome Sequencing

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D066/#234

### Similitudes et différences phénotypiques chez les patients porteurs d'une mutation p.Met112Ile de SOX10

Véronique Pingault (1), Laurence Pierre-Louis (2), Asma Chaoui (3), Alain Verloes (4), Elisabeth Sarrazin (5), Goran Brandberg (6), Nadège Bondurand (3), Peter Uldall (7), Sylvie Manouvrier-Hanu (8)

1. Laboratoire de Génétique, et Inserm U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. Maison de la femme de la mère et de l'enfant, service de réanimation, CHU Martinique, Fort de France, France
3. Inserm U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
4. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Centre de référence caribéen des maladies rares neuromusculaires et neurologiques, CERCA, CHU Martinique, Fort de France, France
6. Pediatric and adolescent clinic, County hospital, Falun, Suède
7. Pediatric and adolescent clinic, The Juliane Marie Center, Copenhagen, Danemark
8. Service de Génétique clinique, et université Lille 2, CHU de Lille, Lille, France

**Auteur correspondant :** Pingault Véronique (veronique.pingault@inserm.fr)

Le syndrome de Waardenburg (WS) se caractérise par l'association entre des anomalies de pigmentation et une surdité neurosensorielle. Quatre types ont été décrits sur des bases cliniques, mais cette classification est imparfaitement corrélée aux causes moléculaires connues du syndrome. Les mutations de SOX10 ont été décrites dans les types II et IV du WS (i.e., sans ou avec maladie de Hirschsprung), des syndromes plus complexes, et des formes partielles de la maladie. Le phénotype induit par les mutations de SOX10 est très variable. Mis à part pour les formes neurologiques de la maladie, il n'y a pas de corrélation génotype-phénotype évidente. Il n'y a pas non plus de hotspot de mutation et la plupart des cas sont sporadiques, ce qui rend particulièrement difficile la recherche de ce type de corrélation.

Nous décrivons trois familles indépendantes avec des mutations de SOX10 prédisant la même modification faux-sens au niveau protéique (p.Met112Ile), ce qui offre une opportunité rare d'améliorer notre connaissance des mécanismes sous-jacents à la variabilité phénotypique. Les anomalies pigmentaires sont étonnamment similaires chez ces patients, indiquant une possible corrélation génotype-phénotype partielle, mais la variabilité plus importante des symptômes neurologiques et gastro-intestinaux suggère que d'autres facteurs génétiques contribuent à l'expression de ces phénotypes. Nous n'avons pas trouvé de lien entre le polymorphisme rs2435357 de RET et la présence d'une maladie de Hirschsprung. Finalement, un des patients présente une achalasie œsophagienne, qui a été rarement décrite dans le WS.

**Mots-clefs :** SOX10, syndrome de Waardenburg, corrélation génotype-phénotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D067/#235

### Des mutations perte de fonction de SOX10 dans le syndrome de Kallmann avec surdité

Véronique Pingault (1), Virginie Bodereau (2), Viviane Baral (3), Séverine Marcos (4), Yuli Watanabe (3), Asma Chaoui (3), Corinne Fouveau (5), Christel Leroy (5), Odile Verrier-Mine (6), Christine Francannet (7), Delphine Dupin-Deguine (8), Françoise Archambeaud (9), François-Joseph Kurtz (10), Jacques Young (11), Jérôme Bertherat (12), Sandrine Marlin (13), Michel Goossens (1), Jean-Pierre Hardelin (14), Catherine Dodé (15), Nadege Bondurand (3).

1. Laboratoire de Génétique, et Inserm U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. Département de Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
3. Inserm U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
4. Inserm U1016, Institut Cochin, Paris, France
5. Laboratoire de Biochimie et génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
6. Service d'Endocrinologie, Centre hospitalier de Valenciennes, Valenciennes, France
7. Service de Génétique médicale, Hôtel Dieu, Clermont-Ferrand, France
8. Service de Génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
9. Service de Médecine et d'Endocrinologie, Hôpital du Cluzeau, Limoges, France
10. Service de Pédiatrie, Hôpital Bel Air, Thionville, France
11. Service d'Endocrinologie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
12. Service d'Endocrinologie, Hôpital Cochin, Paris, France
13. Centre de référence Surdités Génétiques et Inserm U587, Hôpital Trousseau, Paris, France
14. Inserm U587, Institut Pasteur, Paris, France
15. Laboratoire de Biochimie et génétique moléculaire, et Inserm U1016, Hôpital Cochin, Paris, France

**Auteur correspondant :** Pingault Véronique (veronique.pingault@inserm.fr)

Le facteur de transcription SOX10 joue un rôle dans le contrôle de la spécification des lignages et la différenciation cellulaire. Il est un acteur majeur du développement des crêtes neurales. Il a été impliqué dans le syndrome de Waardenburg (WS), une maladie rare caractérisée par l'association d'anomalies de pigmentation avec une surdité. Néanmoins les mutations de SOX10 peuvent provoquer un phénotype variable dont les limites s'étendent au-delà de la définition initiale du syndrome. Sur la base de données récentes décrivant une agénésie des bulbes olfactifs chez certains patients, nous avons suspecté que SOX10 pourrait être également impliqué dans le syndrome de Kallmann (KS).

Le KS est défini par l'association entre une anosmie et un hypogonadisme hypogonadotrope dû à une migration incomplète des cellules neuroendocrine à GnRH (gonadotropin-releasing hormone) le long des nerfs olfactifs, voméronasal et terminal. Des mutations dans les gènes connus de ce syndrome n'expliquent qu'environ 30% des cas. Le KS peut être associé à plusieurs autres symptômes incluant la surdité. Nous rapportons sept mutations de SOX10, représentant environ un tiers des patients présentant un KS et une surdité, ce qui fait de ce gène le premier avec une implication substantielle dans cette association clinique particulière. Les tests fonctionnels in vitro ont confirmé l'effet perte de fonction de ces mutations.

Afin d'expliquer ces résultats, nous nous sommes intéressés au rôle de SOX10 au cours du développement du système olfactif périphérique. L'étude des souris knock-out a permis de montrer un rôle essentiel de ce facteur de transcription dans une sous-population de cellules gliales appelées les olfactory ensheathing cells (OECs) qui dérivent des crêtes neurales. Les embryons homozygotes Sox10<sup>-/-</sup> montrent une absence quasi complète de ces cellules le long du trajet des nerfs olfactifs, ainsi qu'une défasciculation et un mauvais routage des fibres nerveuses, un défaut de migration des cellules à GnRH, et une désorganisation de la couche externe des bulbes olfactifs.

Du fait de leurs propriétés très particulières, les OECs présentent un intérêt médical dans des stratégies de régénération du système nerveux central chez l'homme. Outre mettre en cause un nouveau mécanisme, crête-neural dépendant, dans le syndrome de Kallmann, nos résultats montrent pour la première fois les conséquences de



l'absence des OECs sur le développement du système olfactif périphérique et permet de confirmer plusieurs de leurs fonctions.

**Mots-clefs** : SOX10, syndrome de Kallmann, crête neurale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D068/#246

### Recherche de la mutation récurrente c.1293insG du gène CHRNE chez un patient marocain atteint du syndrome myasthénique congénital

Afaf LAMZOURI (1), Mariam TAJIR (1), Fatima Zahra LAARABI (1), Damien STERNBERG (2), Abdelaziz SEFIANI (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc  
2. Laboratoires de Biochimie et de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant** : LAMZOURI Afaf (lamzouriafaf@hotmail.com)

Les syndromes myasthéniques congénitaux (SMC) sont un groupe d'affections génétiques rares dont la prévalence est estimée à 1 sur 250 000. Ce sont des maladies de la jonction neuromusculaire, qui se distinguent de la myasthénie classique par leur absence de caractère auto-immun. Leur mode de transmission est autosomique récessif et moins fréquemment autosomique dominant.

Les SMC débutent habituellement dans la période néonatale, pouvant mettre en jeu le pronostic vital. Ils se manifestent par une faiblesse musculaire localisée ou généralisée (hypotonie dans les cas les plus précoces), une atteinte oculaire (ptosis et/ou ophtalmoplégie), une atteinte faciale et bulbaire (suction, déglutition, dysphonie). Ces symptômes sont fluctuants et sont accentués à l'effort.

La classification actuelle des SMC repose sur la localisation du défaut protéique au niveau de la jonction neuromusculaire (pré-synaptique, synaptique et post-synaptique).

Les SMC se caractérisent par une grande hétérogénéité génétique : le gène CHNRE (responsable de 50% des SMC) et les gènes RAPSIN, COLQ et DOK7 sont les plus fréquemment impliqués. De nombreuses mutations sont décrites dans ces gènes, et dans la majorité des cas, chaque famille ou patient présente sa propre mutation « mutations privées ». Cependant, quelques mutations sont retrouvées avec une plus grande fréquence dans certaines populations, et montrent l'existence d'un effet fondateur. Il s'agit entre autre de la mutation c.1293insG du gène CHRNE qui est souvent présente chez les patients originaires du pourtour méditerranéen (60%) par rapport à l'ensemble des mutations de ce gène.

Nous rapportons dans ce travail l'observation d'un enfant marocain, consanguin premier degré âgé de 3 ans, ayant un tableau clinique en faveur d'un syndrome myasthénique congénital de transmission autosomique récessive, avec des troubles de la transmission au niveau de la jonction neuromusculaire à l'électromyogramme, et un antécédent d'une sœur décédée dans le même contexte. L'étude moléculaire a confirmé ce diagnostic en mettant en évidence la mutation récurrente c.1293insG de l'exon 12 du gène CHRNE à l'état homozygote chez ce patient et à l'état hétérozygote chez les deux parents. Un traitement par les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase a été démarré chez cet enfant.

Nous illustrons à travers ce cas le rôle du généticien dans le diagnostic positif, la prise en charge et le conseil génétique des SMC.

**Mots-clefs** : syndromes myasthéniques congénitaux, CHRNE, mutation récurrente

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D070/#248

### Hyperglycinémie sans cétose due à une mutation du gène AMT : à propos d'une famille marocaine

Afaf LAMZOURI (1), Mariam TAJIR (1), Fatima Zahra LAARABI (1), Abdellah BELGAS (2), Christian WILHELM (3), Abdelaziz SEFIANI (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc  
2. Pédiatrie, Médecine pédiatrique libérale, Casablanca, Maroc  
3. CeGaT GmbH und Praxis für Humangenetik, CeGaT GmbH, Tübingen, Allemagne

**Auteur correspondant** : LAMZOURI Afaf (lamzouriafaf@hotmail.com)

L'hyperglycinémie sans cétose (HSC) ou encéphalopathie à la glycine est une erreur innée du métabolisme, affectant le système hépatique de clivage de la glycine. C'est la première cause d'encéphalopathie myoclonique néonatale dont l'incidence est estimée à 1 sur 55 000 nouveau-nés. L'HSC est classée selon l'âge de début et l'évolution clinique en forme néonatale, infantile, d'apparition tardive ou transitoire. La forme classique est de révélation néonatale par un coma avec hypotonie sévère, état de mal myoclonique et syndrome tétrapyréramidal. L'électroencéphalogramme montre un aspect caractéristique avec un tracé très hypoactif et pseudopériodique et le diagnostic biologique repose sur le dosage simultané de la glycine dans le plasma et le liquide céphalorachidien (LCR) qui est élevé, avec un rapport LCR/plasma augmenté. Il existe trois gènes connus dont les mutations sont responsables d'HSC : le gène majoritairement impliqué est le GLDC (70% à 75% des cas), puis le gène AMT (20 % des cas) et le gène GCSH impliqué dans moins de 1% des cas. Aucune mutation n'est retrouvée dans environ 5% des cas.

Nous rapportons dans ce travail l'observation d'un nouveau-né marocain, de sexe féminin, consanguin premier degré, qui a présenté au troisième jour de vie des myoclonies segmentaires, puis une hypotonie généralisée et un coma profond au cinquième jour de vie, le décès est survenu 48 heures plus tard. Le dosage de la glycine dans le sang et les urines était très élevé mais n'a pas pu être réalisé au niveau du LCR. Le diagnostic d'HSC était fortement suspecté. L'étude moléculaire réalisée chez les deux parents a montré qu'ils sont tous les deux porteurs de la même mutation à l'état hétérozygote : c.452\_466 ; p.K151\_L155del au niveau de l'exon 4 du gène AMT. Cette mutation à l'état homozygote est connue délétère et responsable de l'HSC. Ce couple a pu bénéficier d'un conseil génétique et un diagnostic anténatal a été proposé pour les grossesses ultérieures. Nous illustrons à travers cette observation l'intérêt de la biologie moléculaire dans le diagnostic positif de l'HSC et le conseil génétique pour la famille.

**Mots-clefs** : Hyperglycinémie sans cétose, gène AMT, conseil génétique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D071/#255

### Syndrome HELIX : une nouvelle claudine impliquée CLDN 10 mutations in Hypokalemia, Ichthyosis, Hypohidrosis, Alacrimia and Xerostomia Syndrome

Yasser Al-Sarraj (1), Christine Bodemer (2), Hatem El Shanti (1), Smail Hadj-Rabia (2), Marios Kambouris (1), Stéphanie Leclerc (3)  
1. Genetics, Shafallah Medical Genetics Center, Doha, Qatar  
2. Dermatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France  
3. Anatomie Pathologique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Hadj-Rabia Smail (smail.hadj@inserm.fr)

Syndrome HELIX : une nouvelle claudine impliquée  
CLDN10 mutations  
in Hypokalemia, Ichthyosis, Hypohidrosis, Alacrimia and Xerostomia Syndrome  
S. Hadj-Rabia<sup>1</sup>, Y. Al-Sarraj<sup>2</sup>, M. Kambouris<sup>2</sup>, S. Leclerc<sup>1</sup>, C. Bodemer<sup>1</sup>, H. El-Shanti<sup>2</sup>  
1MAGEC, Necker 2Shafallah Medical Genetics Center, Doha, Qatar.  
Les ichtyoses sont caractérisées par une anomalie génique de la cornification. Nous avons identifié le rôle de la claudine 1, protéine de structure des jonctions serrées, dans la survenue du syndrome NISCH (cholange sclérosante et ichtyose néonatale). Nous décrivons le rôle de la claudine 10 dans la survenue d'un syndrome dénommé HELIX (Hypohidrose, Déséquilibre Électrolytique, hypoLacrymie, Ichtyose et Xerostomie). Observations : Deux enfants nés d'un couple apparenté, étaient adressés pour discrète KPP, xérose, xerostomie et hypolacrymie. Les ongles, les cheveux et les dents étaient normaux. Chez l'ainé, un malaise révélait une hypokaliémie par fuite rénale. Les explorations biologiques confirmaient l'hypokaliémie avec kaliurèse élevée chez les deux patients. L'histologie montrait une ichtyose par prolifération et des desmosomes dupliqués superposables à ceux décrits au cours du syndrome NISCH. Une étude de liaison permettait d'identifier une mutation faux-sens homozygote, délétère et absente d'une cohorte de mille génomes de même origine, dans le gène CLDN10 codant la claudine10. Discussion : Ce syndrome souligne l'importance de la place des jonctions serrées dans la survenue d'un trouble de la cornification. Il montre l'importance de l'examen dermatologique chez des patients suivis pour hypokaliémie précoce inexplicable. Il ouvre un champ d'investigations à propos de l'interaction des différents systèmes jonctionnels au sein des épithéliums. En effet, alors que les claudines sont des protéines des jonctions serrées, comment expliquer l'aspect dupliqué du desmosome qui semble caractéristique des ichtyoses impliquant les claudines ?

**Mots-clefs :** Tight junctions, Ichtyose syndromique, Bioinformatique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D072/#258

### Syndrome AA et Déficience Intellectuelle (AA-DI), une nouvelle anomalie de la glycosylation.

Christine COUBES (1), Katrin KOEHLER (2), David GENEVIEVE (1), Christian HUEBNER (3), Pierre SARDA (1)  
1. Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France  
2. Division of Endocrinology and Diabetes, Children's Hospital, Technical University, Dresde, Allemagne  
3. Institute of Human Genetics, Hôpital Universitaire, Iéna, Allemagne

**Auteur correspondant :** COUBES Christine (c-coubes@chu-montpellier.fr)

Le syndrome triple A est caractérisé par l'association d'une achalasie, d'une alacrymie et d'une insuffisance surrénalienne (AAAS). Les patients avec un syndrome triple A ne présentent pas de DI. Nous présentons 3 patients issus de 2 familles différentes (Tunisie et Maroc) porteurs d'une alacrymie, d'une achalasie et d'une déficience intellectuelle. Aucune mutation dans le gène AAAS n'a été retrouvée chez les patients. Le syndrome AA-DI semble donc correspondre à une entité spécifique. L'insuffisance surrénalienne est toujours absente. Grâce à un regroupement de 9 familles, dont nos 2 familles, l'équipe du Professeur Hubner, à l'Hôpital Universitaire de Iéna en Allemagne, a retrouvé des anomalies du gène guanosine diphosphate (GDP)-mannose pyrophosphorylase A (GMPPA) dans ce nouveau syndrome. Nos 3 patients sont porteurs du même phénotype comprenant une achalasie, une alacrymie, un retard de développement psychomoteur puis une déficience intellectuelle (AA-DI). Le gène GMPPA code pour une protéine de 420 acides aminés (aa) qui comporte 2 domaines. Un premier domaine (3-194 aa) est partagé par de nombreux enzymes impliquées dans le transfert des nucléotides sur les phosphoglucides. Le second domaine hexapep (286-319 aa) est présent dans plusieurs familles de transférases. L'homologue le plus proche de GMPPA est GMPPB (49% de similitudes). Des mutations de GMPPB ont été récemment identifiées, responsables de dystrophies congénitales et de myopathies des ceintures, associées à une hypoglycosylation de l'alpha-dystroglycan. Dans les CDG1a et 1b, un déficit en GDP-mannose est habituel. A l'opposé, des taux de GDP-mannose très élevés sont retrouvés dans les lymphoblastes des patients porteurs d'un déficit en GMPPA par rapport à ceux des contrôles. Cela suggère que GMPPA pourrait, par l'intermédiaire du GDP-mannose, servir de sous-unité régulatrice inhibant le rétrocontrôle de GMPPB au lieu d'avoir une activité catalytique directe. Alors qu'une supplémentation en mannose a été proposée dans le traitement du CDG1b, le déficit en GMPPA pourrait être amélioré par un régime pauvre en mannose qui reste cependant difficile à mettre en place.

**Mots-clefs :** Syndrome AA-Déficience intellectuelle, Gène GMPPA, Glycosylation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D073/#271

### Mutations d'ACAD9 : une cause fréquente de déficit en complexe I d'origine nucléaire.

Audrey Boutron (1), Annabelle Chaussonnet (2), Konstantina Fragaki (2), Claude Jardel (3), Isabel Correia (1), Anne Lombes (4), Abdelhamid Slama (1), Veronique Paquis-Flucklinger (2)

1. Laboratoire de biochimie, hôpital de Bicêtre, HUPS, APHP, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Service de Génétique Moléculaire, CHU de Nice, NICE, France
3. Laboratoire de Biochimie Métabolique, Hôpital de La Salpêtrière, GHU Est AP-HP, PARIS, France
4. Inserm, U1016, Institut Cochin, PARIS, France

**Auteur correspondant :** Boutron Audrey (audrey.boutron@bct.aphp.fr)

Le déficit isolé en complexe I est l'atteinte biochimique la plus fréquente chez les patients avec déficit isolé de la Chaîne Respiratoire. L' AcylCoA déshydrogénase 9 (ACAD9) est une enzyme impliquée dans la beta oxydation mitochondriale des acides gras à chaîne longues préférentiellement des acides gras insaturés ; il existe moins de 10 cas décrits de ce déficit avec présentation myopathique ou syndrome de Reye. ACAD9 fonctionne également comme une protéine d'assemblage du complexe I. Cette nouvelle fonction a été récemment identifiée chez des patients se présentant avec une acidose lactique, une cardiomyopathie le plus souvent hypertrophique et surtout répondant rapidement au traitement par riboflavine et bézafibrate. Nous rapportons ici 3 patients, 2 atteints de cardiomyopathie sévère très précoce, le troisième atteint d'une myopathie caractérisée par une intolérance à l'effort, porteurs de mutations délétères du gène ACAD9

Patients et méthodes :

Un bilan métabolique a été réalisé ainsi qu'une biopsie musculaire pour étude histologique et analyse des différents complexes de la chaîne respiratoire. Le BNPAGE a été effectué sur muscle et/ou fibroblastes et l'analyse de l'ADN mitochondrial (ADNmt) a été effectuée. Devant le profil clinique, biochimique et le BNPAGE l'étude moléculaire du gène ACAD9 a été réalisée

Résultats :

Chez les 3 patients une hyperlactatémie a été retrouvée avec une augmentation des dérivés du cycle de Krebs sur la chromatographie des acides organiques urinaires. Sur le muscle, des aspects évocateurs de myopathie mitochondriale étaient observés (surcharge en lipide et fibres ragged-red) et l'étude de la chaîne respiratoire a objectivé un déficit isolé en complexe I. Le BNPAGE a montré principalement un défaut d'assemblage du complexe I.

L'étude de l'ADNmt (surveyor et mitochip) n'a pas identifié de mutation. Chez le patient myopathique, des délétions multiples de l'ADNmt ont été retrouvées sur le muscle.

Le séquençage d'ACAD9 a montré pour cette dernière patiente une mutation faux sens homozygote (p.Arg414Cys) au niveau de l'exon12, mutation déjà décrite chez un patient se présentant aussi avec une intolérance à l'effort et un léger retard psychomoteur. Pour les 2 autres patients à présentation cardiomyopathique précoce des mutations hétérozygotes composites ont été identifiées dont certaines déjà décrites chez des patients ayant le même tableau clinique. Il pourrait donc exister une corrélation génotype-phénotype.

Le profil biochimique particulier du déficit en complexe I (en spectroscopie et en BN-PAGE) associé à un tableau clinique compatible doit faire envisager un déficit en ACAD9. Ce diagnostic est important à reconnaître puisque un traitement par riboflavine peut être mis en œuvre.

**Mots-clefs :** ACAD9, Complexe I, cardiomyopathie hypertrophique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D074/#274

### Une nouvelle forme de syndrome myasthénique congénital d'expression distale résulte de mutations dans l'agrine

Elodie de Bruyckère (1), Stéphanie Godard-Bauché (1), Marie-Joséphine Fontenille (1), Claire-Sophie Davoine (1), Daniel Hantai (2), Emmanuel Fournier (2), Damien Sternberg (2), Bruno Eymard (2), Sophie NICOLE (1)

1. INSERM U975, UPMC UMRS975, CNRS UMR7225, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. INSERM U975, UPMC UMRS975, CNRS UMR7225, AP-HP, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** NICOLE Sophie (sophie.nicole@inserm.fr)

Les syndromes myasthéniques congénitaux (SMC) se caractérisent par une fatigabilité et une faiblesse musculaire. S'ils sont cliniquement et génétiquement hétérogènes avec 18 gènes connus au jour d'aujourd'hui, ils résultent tous d'un dysfonctionnement de la transmission synaptique à la jonction neuromusculaire (JNM) qui est détectable à l'électromyographie par l'existence d'un décrétement à la stimulation nerveuse répétitive. Cette transmission défectueuse résulte de mutations le plus souvent perte de fonction affectant une protéine critique pour la fonction ou le développement de la JNM. L'un de ces gènes majeurs même si minoritairement muté en terme de fréquence, est celui codant pour l'agrine, dont l'isoforme neuronal est critique pour le développement de l'élément post-synaptique. Nous rapportons ici un nouveau phénotype SMC de transmission récessive chez lequel deux mutations hétérozygotes composites de l'agrine ont été identifiées par une approche de séquençage haut débit dans une fratrie non consanguine caucasienne. Cette forme progressive de fatigabilité a une expressivité prédominante dans les muscles distaux qui s'associe à une atrophie musculaire. L'investigation électroneuromyographique a montré un décrétement plus marqué dans les territoires distaux et un incrément à l'effort. L'analyse de la biopsie musculaire en territoire extrasynaptique n'a pas mis en évidence d'anomalie spécifique, tandis que l'analyse des plaques motrices a révélé des remodelages synaptiques importants en accord avec une atteinte de la JNM habituellement observée dans les SMC. La corrélation génotype-phénotype entre les mutations récessives de l'agrine décrites à ce jour et le phénotype myasthénique en résultant reste à être déterminée.

**Mots-clefs :** Myasthénie, agrine, jonction neuromusculaire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D075/#285

### La run-initiation ou l'intégration des principes de base de la sélection naturelle dans un concept révolutionnaire de cancérogenèse adapté à la compréhension de l'origine des cancers MSI-H et à la description du syndrome de Lynch.

Nicolas JANIN (1), Teresa Fiúza (2), Jean-François Vanbellinghen (3)  
1. Service de Génétique Humaine, Cliniques universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique  
2. Unidades Saúde CUF, hospitalcuf descobertas, Lisboa, Portugal  
3. Biologie Moléculaire, Institut de Pathologie et de Génétique, GOSELIES, Belgique

**Auteur correspondant :** JANIN Nicolas (nicolas.janin@uclouvain.be)

Les connaissances sur le syndrome de Lynch couvrent tous les domaines du savoir : mutations causales du syndrome connues ; mutations acquises dans les cancers MMRD connues ; histoire naturelle des cancers MMRD connue ; phénotype du syndrome de Lynch archi-connu avec tous les détails de l'incidence dans le temps et dans l'espace des cancers chez les sujets prédisposés.

Malgré tout ce savoir accumulé, la relation génotype-phénotype du syndrome de Lynch reste inexplicée et inexplicable pour la plupart. Selon nous, cette situation étonnante tient au fait que les auteurs actuels fondent leur interprétation du syndrome sur une série de concepts aberrants incompatibles avec les principes de base de la théorie de l'évolution (cf. exposé séparé).

Partant du fait que la perte de la fonction MMR constitue la première étape vers un éventuel cancer MSI-H, nous avons formulé l'hypothèse que la cellule normale acquérant le phénotype MMRD est un mutant désespéré au sens d'Ernst Mayr : son phénotype est tellement éloigné de la normale (taux de mutation x 100-1000) qu'il doit être non-viable à long terme. Selon nous, prédire qu'une telle cellule va donner une descendance susceptible d'évoluer vers un cancer s'apparente à croire à un miracle. Nous pensons que le destin logique d'un clone mutateur MMRD est de vivoter sans aucun avantage sélectif jusqu'à ce que le fardeau des mutations accumulées l'amène à disparaître par apoptose et/ou par sénescence accélérée.

Selon notre hypothèse, le syndrome de Lynch doit être une prédisposition à l'apparition de clones MMRD auto-abortifs. Considérer le problème sous cet angle conduit à s'interroger sur les conditions susceptibles de favoriser la transformation a priori extrêmement improbable d'un clone MMRD.

La réponse à cette question dans le strict respect des règles de la logique, de l'anatomie, de la physiologie et des principes de base de la théorie de l'évolution passe par l'élaboration d'un nouveau concept de cancérogenèse adapté aux clones mutateurs MMRD. Dans ce nouveau cadre, les concepts conventionnels d'initiation et de promotion n'ont plus de sens. Ils disparaissent et fusionnent dans un processus d'initiation hétérodoxe totalement réversible s'il n'est pas achevé en un délai fixé. Baptisé run-initiation, ce processus contient toutes les étapes limitantes de la cancérogenèse. Il est constitué d'un quantum de mutations dont l'acquisition est sous la dépendance de quatre paramètres : cause de la perte de la fonction MMR ; tolérance à l'apoptose de la cellule souche MMRD ; nombre de mitoses dans la couche répliquative de l'épithélium ; hasard.

En adéquation parfaite avec la réalité, ce nouveau concept de cancérogenèse est la clé permettant d'élucider et d'intégrer en un tout cohérent tous les mystères de la relation génotype-phénotype du syndrome de Lynch. Pour cela, il faut simplement tenir compte des variations physiologiques des paramètres dont dépend l'acquisition du quantum de mutations de la run-initiation.

**Mots-clefs :** syndrome de Lynch, cancers MSI-H, cancers MMRD, cancérogenèse

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D076/#291

### Les mutations de NR5A1/SF1 ne sont pas une cause majeure d'insuffisance ovarienne primaire

Adela VOICAN (1), Anne BACHELOT (2), Jérôme BOULIGAND (3), Bruno FRANCOU (3), Marc LOMBES (1), Philippe TOURAINE (2), Anne GUIOCHON-MANTEL (3)

1. Inserm U693, Faculté de médecine Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France  
2. Service d'Endocrinologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
3. Service de Génétique Moléculaire, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital du Kremlin Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

**Auteur correspondant :** Francou Bruno (bruno.francou@gmail.com)

**Objectif .-** L'insuffisance ovarienne primaire (IOP) affecte environ 1 % des femmes de moins de 40 ans. Une composante génétique a été suggérée dans la majorité des formes non syndromiques et des mutations de NR5A1/SF1 ont été rapportées récemment en association avec l'IOP. NR5A1/SF1 code pour un récepteur nucléaire dont le ligand naturel n'est pas encore identifié. NR5A1/SF1 est un facteur de transcription de nombreux gènes de la reproduction, de la stéroïdogénèse et de la différenciation sexuelle. Nous avons étudié ce gène dans une large cohorte de patientes présentant une IOP afin d'évaluer la fréquence des variants. Nous avons aussi effectué la caractérisation fonctionnelle des variants de NR5A1 identifiés.

**Patients et méthodes .-** Nous avons recherché des mutations de NR5A1/SF1 chez 180 patientes présentant une IOP idiopathique et 82 sujets témoins de la population générale. Nous avons généré des vecteurs d'expression des variants identifiés de ce récepteur nucléaire et caractérisé leur capacité de liaison à l'ADN à l'aide de la technique de retard sur gel (EMSA) et leur activité transactivatrice après co-transfection des plasmides contenant les différents variants NR5A1 avec le gène rapporteur Cyp11a1 -Luciférase.

**Résultats .-** Quatre variants faux-sens de NR5A1/SF1, non retrouvés dans la population contrôle, ont été identifiés chez trois patientes : un variant original (p.Ser54Arg) et trois variants décrits dans la littérature (p.Pro198Leu, p.Pro129Leu et p.Gly123Ala). Nous avons aussi retrouvé six polymorphismes précédemment décrits. L'analyse fonctionnelle des variants p.Ser54Arg, p.Pro129Leu et p.Pro198Leu a été réalisée par EMSA et par des tests de gène rapporteur. Le variant p.Gly123Ala a été déjà décrit comme ayant une activité similaire au gène sauvage et il n'a pas été inclus dans notre étude fonctionnelle. Les trois patientes porteuses d'un variant faux-sens ont 20 à 33 ans et présentent une aménorrhée secondaire. Il s'agit, chez deux d'entre elles, d'une forme familiale d'IOP sans insuffisance surrénale ni d'anomalie du développement sexuel. L'échographie ovarienne a retrouvé des follicules chez deux de ces patientes. L'étude fonctionnelle des trois variants de NR5A1/SF1 a exclu une altération de la liaison à l'ADN, une modification des capacités transactivatrices ou un effet dominant négatif.

**Conclusion .-** La prévalence des variants de NR5A1 dans cette pathologie est faible (1.6%). Notre étude sur une large cohorte montre que les mutations de NR5A1/SF1 ne sont pas une cause majeure d'IOP contrairement à ce qu'il avait été initialement suggéré.

**Mots-clefs :** Endocrinologie, SF1 NR5A1, Caractérisation Fonctionnelle



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D077/#292

### La mutation R31C de GNRH1 est associée à une forme autosomique dominante d'hypogonadisme hypogonadotrophique congénital

Luigi MAIONE (1), Frédérique ALBAREL (2), Philippe BOUCHARD (3), Régis BOBE (4), Robert Peter MILLAR (5), Colleen FLANAGAN (5), Joelle COHEN-TANNOUJJI (6), Annamaria COLAO (7), Thierry BRUE (8), Marc LOMBES (1), Jacques YOUNG (9), Anne GUIOCHON-MANTEL (10), Jérôme BOULIGAND (10)

1. Inserm U693, Faculté de médecine Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. 4. Département d'Endocrinologie et Centre de Référence des Maladies Rares d'Origine Hypophysaire, Hôpital de la Timone, Marseille, France
3. 5. Service d'Endocrinologie, diabétologie et endocrinologie de la reproduction, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
4. Unité mixte de Recherche en Santé 770, Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France
5. UCT/MRC Receptor Biology Research Unit, Institute of Infectious Diseases and Molecular Medicine, University of Cape Town Medical School, Observatory, Afrique du sud
6. 8. Equipe Physiologie de l'Axe Gonadotrope, Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative, Sorbonne Paris Cité, Université Paris Diderot, Paris 7, Paris, France
7. Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Sezione di Endocrinologia, Università Federico II, Napoli, Italie
8. Département d'Endocrinologie et Centre de Référence des Maladies Rares d'Origine Hypophysaire, Hôpital de la Timone, Marseille, France
9. Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital du Kremlin Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
10. Service de Génétique Moléculaire, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital du Kremlin Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

**Auteur correspondant :** Bouligand Jérôme (jerome.bouligand@u-psud.fr)

#### Introduction

La GnRH, est un neuropeptide hypothalamique de 10 acides aminés (décapeptide) qui est très conservé chez les mammifères, en accord avec sa fonction essentielle pour le contrôle hormonal de la reproduction. Les mutations de GNRH1 codant pour la pré-pro-GnRH (92 acides aminés), sont une cause exceptionnelle d'hypogonadisme hypogonadotrophique congénital avec oxifaction normale (nCHH). A ce jour, une seule mutation faux-sens modifiant la séquence peptidique du décapeptide actif (acides aminés 24 à 33) a été décrite. Cette mutation c.91C>T, p.R31C, entraîne la substitution de l'arginine située en position 8 dans la séquence du décapeptide. La cytosine c.91 de GNRH1 est très vraisemblablement un « Hot Spot » de mutation, car située sur un îlot CpG et rapportée chez quatre familles non apparentées, dont les deux familles françaises de notre étude.

#### Objectif

Il s'agit de valider l'implication de la mutation p.R31C de GNRH1 dans les nCHH et d'expliquer le mode de transmission autosomique dominant décrit pour ces familles. Cette observation est intrigante alors qu'un mode de transmission récessif est classiquement rapporté pour les mutations non sens ou frameshift de GNRH1.

#### Résultats

Par différentes approches cellulaires et moléculaires, nous avons démontré la perte de fonction du décapeptide muté. Cette perte de fonction est due à une perte d'affinité pour le récepteur, en accord avec les données structures fonctions déjà connues du décapeptide GnRH. L'évaluation de plusieurs voies de signalisation dans différents modèles cellulaires a permis de détailler les caractéristiques de cette perte de fonction mais ces études in vitro n'ont pas permis de mettre en évidence un effet dominant négatif du mutant vis-à-vis du décapeptide sauvage.

#### Conclusion

Ces études in vitro ont permis de révéler des données originales sur la signalisation GnRH. Elles posent de nouvelles questions sur les

mécanismes in vivo qui pourraient expliquer un mode de transmission « dominant » jusqu'à présent non décrit pour les nCHH liés à GNRH1.

**Mots-clefs :** Endocrinologie, GNRH1, Caractérisation Fonctionnelle

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D078/#295

### Hypercalcémie Hypocalciurie Familiale de types 1 et 3, différences et ressemblances

Lamisse Mansour-Hendili (1), Caroline Travers (1), Nicolas Cornière (2), Xavier Jeunemaitre (1), Pascal Houillier (2), Rosa Vargas-Poussou (1)

1. Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidu, Paris, France
2. Physiologie, Hôpital Européen Georges Pompidu, Paris, France

**Auteur correspondant :** Vargas-Poussou Rosa (rosa.vargas@egp.aphp.fr)

#### Introduction

Le syndrome d'hypercalcémie Hypocalciurie Familiale (HHF) est une pathologie autosomique dominante d'évolution bénigne. Le HHF1 est due à des mutations inactivatrices du gène du récepteur du calcium (CASR). Récemment, le gène responsable de HHF3, AP2S1, a été identifié: il code pour la sous-unité sigma de la protéine adaptatrice-2 qui participe à l'endocytose et la régulation de CaSR. Nous avons analysé le gène AP2S1 dans un tiers de notre cohorte sans mutation du gène CASR et comparé le phénotype des patients avec mutations d'AP2S1 à celui de 58 patients porteurs de mutations du gène CASR..

#### Méthode

La recherche de mutations a été effectuée par séquençage direct (Sanger) après amplification par PCR des exons et jonctions intron-exon du gène AP2S1. Les données biologiques au diagnostic ont été analysées rétrospectivement.

#### Résultats

Nous avons détecté des mutations du gène CASR chez 26% des 470 patients ayant un tableau compatible avec une HHF. Dans le groupe de patients sans mutation de CASR, nous avons analysé le gène AP2S1 chez 112 patients. Trois mutations précédemment décrites touchant le même acide aminé, ont été détectées chez 13 patients appartenant à 9 familles : p.Arg15Cys chez 5 patients, p.Arg15His chez 4 et p.Arg15Leu chez 4.

Les données clinico-biologiques au diagnostic en comparaison avec un groupe de patients HHF1 montrent : (AP2S1, n=13 vs CASR, n=58; médiane et intervalle interquartile; en exposant le nombre de valeurs manquantes) :

- Age (années) : 35 (11,5-61) vs 32 (2,8-50,5), ns
- Sexe (rapport M/F) : 7/6 vs 25/33
- Ca total (mmol/l) : 2,90 (2,80-2,94) vs 2,64 (2,54-2,92); p=0,007
- Ca+2 (mmol/l) : 1,61 (1,49-1,65) vs 1,40 (1,35-1,50) 10; p=0,0007
- Phosphate (mmol/l) : 0,81 (0,71-0,97)3 vs 0,86 (0,73-0,98)10; ns
- PTH (pg/ml) : 43 (32-78)4 vs 45 (33-59)2; ns.
- Ca/Cr urinaire sur échantillon (mmol/mmol) : 0,16 (0,07-0,30)5 vs 0,13 (0,09-0,24)8; ns

Après exclusion des cas pédiatriques (n=20), la différence de calcémie entre HHF1 et HHF3 persiste et une différence de concentration de PTH apparaît (p=0,03).

#### Conclusions

• Le diagnostic entre une hyperparathyroïdie primitive et une HHF n'est pas toujours facile, ce qui explique le relativement faible taux de détection de mutations dans notre cohorte. Néanmoins l'exclusion du diagnostic de HHF est importante pour la prise en charge de patients. Nous avons détecté une mutation du gène AP2S1 chez 8% des cas testés suspects d'HHF sans mutation de CASR.

• Les cas de HHF3, décrits dans la littérature, sont caractérisés par des valeurs de PTH plus élevées que chez ceux ayant une HHF1. Dans notre cohorte, nous mettons en évidence également une hypercalcémie plus marquée chez les patients ayant une HHF3, sans

différence de calciurie; ceci indique que les mutations HHF3 stimulent plus la réabsorption rénale de calcium que les mutations HHF1.

**Mots-clefs** : Hypercalcémie, Hétérogénéité génétique, Protéine adaptatrice-2

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D079/#297

### Identification d'un élément cis-régulateur de SHH à partir de l'étude d'une famille de polydactylie préaxiale et hypertrichose autosomique dominante

FLORENCE PETIT (1), ANNE SOPHIE JOURDAIN (2), BORIS KEREN (3), JORIS ANDRIEUX (4), NICOLE PORCHET (5), MURIEL HOLDER ESPINASSE (1), SYLVIE MANOUVRIER HANU (1), FABIENNE ESCANDE (5)  
1. SERVICE DE GENETIQUE CLINIQUE, CHRU LILLE, LILLE, France  
2. LABORATOIRE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE, CHRU LILLE, LILLE, France  
3. UF DE CYTOGENETIQUE, GROUPE HOSPITALIER PITIE SALPETRIERE, PARIS, France  
4. LABORATOIRE DE GENETIQUE MEDICALE, CHRU LILLE, LILLE, France  
5. LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE, CHRU LILLE, LILLE, France

**Auteur correspondant** : PETIT FLORENCE (florencepetitmonnet@gmail.com)

La polarisation antéro-postérieure des membres est initiée précocement au cours du développement afin de mettre en place le nombre et l'identité des doigts. La zone d'activité polarisante (ZPA), région mésenchymateuse située au bord postérieur du bourgeon de membre, en constitue le centre de signalisation. La molécule signal Sonic Hedgehog (SHH), exprimée spécifiquement par les cellules de la ZPA, est un morphogène dont le gradient d'expression détermine la différenciation des doigts. L'expression ectopique de SHH est responsable de malformations congénitales des membres de type polydactylie préaxiale (PDP). Ces formes de polydactylie concernent environ 1 naissance sur 2000. La grande majorité des PDP isolées est liée au gain de fonction (par mutation ponctuelle ou gain en nombre de copie) d'une séquence non codante régulatrice de SHH. Cette séquence, dénommée ZRS (ZPA Regulatory Sequence), est localisée en 7q36 en amont du gène SHH et présente une activité spécifique au développement du membre.

Nous rapportons une famille où ségrège une forme autosomique dominante de PDP associée à une hypertrichose du dos. Cette association phénotypique n'a jamais été décrite à notre connaissance. Des analyses en SNP-array nous ont permis de confirmer la liaison au locus 7q36 contenant plusieurs éléments régulateurs de SHH. L'étude de la ZRS dans cette famille n'a pas identifié d'anomalie, ce qui est également le cas pour d'autres familles de PDP ou modèles animaux avec liaison au locus SHH. En revanche, nous avons mis en évidence une délétion d'environ 2 kb en amont de SHH. L'étude fonctionnelle de cette séquence par des expériences de transfection cellulaire montre qu'elle comporte un élément régulateur de type silencer. Ainsi, la délétion de cet élément serait à l'origine d'une surexpression de SHH au niveau du bourgeon de membre, responsable de la polydactylie préaxiale. Compte tenu de l'implication de SHH dans le développement du follicule pileux et le cycle pileux post-natal, il est fort probable que sa dérégulation soit également responsable de l'hypertrichose dans cette famille.

**Mots-clefs** : SHH, polydactylie, hypertrichose

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D080/#300

### Le réseau « GenMucoFrance », modèle de réseau des laboratoires de génétique moléculaire : 12 années d'expérience

Emmanuelle Girodon (1), Marie-Pierre Audrézet (2), Marie des Georges (3), Thierry Bienvenu (4), Eric Bieth (5), Guy Lalau (6), Michel Goossens (7), Mireille Claustres (3), Claude Férec (2)

1. Département de Génétique, GH Henri Mondor et Cochin-Broca-Hôtel Dieu, AP-HP and Inserm U955, Créteil et Paris, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHU de Brest, Brest, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier et IURC, Montpellier, France
4. Laboratoire de Biochimie et Génétique moléculaires, GH Cochin-Broca-Hôtel Dieu, Paris, France
5. Service de Génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
6. Laboratoire du Pôle de Biologie- Pathologie- Génétique, CHRU de Lille, Lille, France
7. Département de Génétique, GH Henri Mondor et Cochin-Broca-Hôtel Dieu, AP-HP, Créteil et Paris, France

**Auteur correspondant** : Girodon Emmanuelle (emmanuelle.girodon@inserm.fr)

Le diagnostic génétique de la mucoviscidose et des maladies associées aux mutations du gène CFTR est réalisé en France au sein d'un réseau de trente-six laboratoires de génétique moléculaire, réseau dont le fonctionnement est soutenu par des crédits DHOS depuis 2001. Le diagnostic s'appuie sur des recommandations professionnelles nationales et européennes, ce qui garantit l'homogénéité de la prise en charge sur le territoire. Quelques 15 000 analyses sont réalisées par an ainsi que 500 diagnostics prénatals. Trois niveaux d'activité de laboratoires ont été reconnus par la circulaire DHOS : les laboratoires de « niveau 1 » pratiquent la recherche de mutations les plus fréquentes ; les laboratoires « spécialisés » et « de référence » pratiquent la recherche de mutations rares et font l'objet du soutien. Ces derniers ont en outre le rôle d'assurer l'expertise de dossiers difficiles ainsi que des missions d'animation et de coordination du réseau.

Depuis 2001, huit ateliers ont été organisés, auxquels ont participé également cliniciens et chercheurs, couvrant des aspects organisationnels, techniques, scientifiques et cliniques. L'ensemble des professionnels académiques et du privé (une centaine au dernier atelier) peuvent ainsi échanger sur les diverses problématiques liées à la pratique des études du gène CFTR et proposer de façon consensuelle des solutions adaptées. Une base de données moléculaires "CFTR-France", développée à Montpellier avec le soutien de l'association Vaincre La Mucoviscidose, constitue une aide précieuse au diagnostic et au conseil génétique. Le réseau participe à de nombreuses collaborations nationales et internationales, scientifiques ou organisationnelles. La participation de divers membres des laboratoires spécialisés et de référence à des actions européennes (notamment, recommandations de bonnes pratiques, programmes d'évaluation externe de la qualité) concourt également au dynamisme du réseau. Ces diverses activités contribuent largement à la structuration de la filière de santé « Muco-CFTR ». A l'heure du séquençage à haut-débit, qui offre en théorie la possibilité de détecter toutes les anomalies génétiques en une seule analyse, ce type de réseau garde plus que jamais sa place dans la perspective de l'organisation d'une prise en charge de qualité sur le territoire national.

**Mots-clefs** : Réseau, Mucoviscidose, Filière de Santé

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D081/#303

### Syndrome de Simpson-Golabi-Behmel : Description clinique et étude moléculaire du gène GPC3 chez 2 familles marocaines

Maria Zerkaoui (1), Ilham Ratbi (1), Siham Chafai Elalaoui (2), Marie-Pierre Moizard (3), Martine Raynaud (4), Maria Grazia Pomponi (5), Abdelaziz Sefiani (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Service de Génétique, CHUR Tours, Tours, France
4. Service de génétique, CHUR Tours., Tours, France
5. Service de Génétique Médicale, Polyclinique A. Gemelli, Rome, Italie

**Auteur correspondant :** Zerkaoui Maria (maria.zerkaoui@gmail.com)

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS) est une maladie à transmission récessive liée à l'X, caractérisée par une avance de croissance globale pré- et postnatale, une dysmorphie faciale, des malformations viscérales et squelettiques, un risque tumoral augmenté, et un retard mental variable.

Sa prévalence est inconnue. Une centaine de cas ont été décrits dans la littérature.

La majorité des cas rapportés sont liés à des mutations fauxsens, nonsens et frameshift du gène Glypican-3 (GPC3) en Xq26. Ce gène code pour une protéoglycane extra-cellulaire appelée Glypican-3. Elle facilite la présentation des facteurs de croissance à leurs récepteurs, jouant ainsi un rôle important dans la morphogénèse et le développement.

Nous rapportons l'observation de deux patients issus de 2 familles différentes. Le premier patient est un cas sporadique, consanguin, âgé de 5 ans, présentant une avance de croissance et une dysmorphie faciale évocatrice d'un SGBS. L'étude moléculaire du gène GPC3 a identifié chez lui une nouvelle mutation de novo c.271C>T (p.Gln91\*). Le 2ème patient est âgé de 10 mois, consanguin, présentant également un phénotype en faveur d'un SGBS. Dans ses antécédents, un frère aîné décédé, présentant le même tableau clinique. Il est porteur de la mutation c.1666 G>A (p.Gly556Arg) à l'état hémizygote. Cette mutation a également été retrouvée chez sa mère à l'état hétérozygote.

La confirmation du diagnostic du SGBS chez ces deux patients nous a permis d'adapter leur prise en charge médicale, et de prodiguer un conseil génétique aux familles.

**Mots-clefs :** Syndrome de Simpson-Golabi-Behmel, Transmission récessive liée à l'X, GPC3

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D082/#304

### ZEB2, un nouveau gène candidat pour l'asplénie

Linda Pons (1), Sophie Dupuis-Girod (1), Marie-Pierre Cordier (1), Patrick Edery (1), Massimiliano Rossi (1)  
1. service de génétique clinique, Hôpital Femme Mère Enfant, BRON, France

**Auteur correspondant :** Dupuis-Girod Sophie (sophie.dupuis-girod@chu-lyon.fr)

L'asplénie congénitale est une anomalie rare avec peu de bases génétiques connues. Elle peut être syndromique ou isolée, ce qui est extrêmement rare avec seulement 70 cas rapportés à ce jour.

Le syndrome de Mowat Wilson (MWS, OMIM #235730) est caractérisé par une dysmorphie faciale typique (sourcils larges et éparés au milieu, hypertélorisme, énoptalmie, lobules projetés en avant avec une dépression centrale, nez busqué et menton pointu), une déficience intellectuelle, une microcéphalie, une épilepsie et des malformations congénitales incluant la maladie de Hirschsprung, des malformations génito-urinaires, des cardiopathies, une agénésie du corps calleux et des anomalies ophtalmologiques. Ce syndrome a été décrit pour la première fois en 1998. Il est causé par des mutations ou des délétions hétérozygotes dans le gène ZEB2 (Zinc finger E-box-binding homeobox).

Sur près de 180 patients décrits dans la littérature à ce jour, l'asplénie n'a été rapportée qu'une fois. Par ailleurs, il a été montré que ZEB2 a une expression diffuse dans de nombreux organes murins et humains incluant dans la rate.

Nous rapportons 4 cas d'hypoplasie/aplasie splénique chez 6 des patients MWS suivis dans notre service, dont 3 ont fait des complications infectieuses sévères à pneumocoque (purpura fulminans, septicémie et méningite).

Cette observation montre que l'hypoplasie/aplasie splénique fait partie du phénotype du MWS. Une échographie abdominale devrait systématiquement être réalisée chez les patients MWS afin de la dépister. Dans le cas où elle serait mise en évidence, il faudrait prévenir les complications infectieuses par une vaccination et une antibioprofylaxie adaptées. De plus cette association souligne le rôle potentiel de ZEB2 dans le développement splénique humain et fait de ce gène un potentiel candidat pour les asplénies congénitales.

**Mots-clefs :** syndrome de Mowat-Wilson, ZEB2, asplénie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D083/#308

### Mise en évidence de mutations délétères dans le gène FAT1 responsables de maladies neuromusculaires chez l'homme.

Francesca Puppo (1), Eugénie Dionnet (1), Pascaline Gaildrat (2), Christel Castro (1), Catherine Vovan (3), Karine Bertaux (3), Rafaëlle Bernard (3), Shahram Attarian (4), Kanako Goto (5), Ichizo Nishino (5), Yukiko Hayashi (6), Martin Krahn (1), Françoise Helmbacher (7), Marc Bartoli (1), Nicolas Levy (1)  
1. Inserm UMR\_S 910 GMGF, Aix Marseille Université, Marseille, France  
2. Inserm, UMR 1079, Université de Rouen, IRIB, Rouen, France  
3. AP-HM, Département de Génétique Médicale et de Biologie Cellulaire, Hôpital de la Timone, Marseille, France  
4. AP-HM, Département de Neurologie et Maladies Neuromusculaires, Hôpital de la Timone, Marseille, France  
5. National Institute of Neuroscience, NCNP, Tokyo, Japon  
6. Department of neurophysiology, Tokyo Medical University, Tokyo, Japon  
7. CNRS UMR 7288, IBDM, Aix Marseille Université, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Bartoli Marc (marc.bartoli@univ-amu.fr)

Notre travail s'est basé sur l'analyse du gène FAT1 dans une cohorte de 51 patients japonais atteints de myopathie similaire à la Dystrophie Facio-Scapulo-Humérale (FSHD). La FSHD est une maladie génétique complexe qui touche de façon spécifique et asymétrique certains muscles en particulier de la face. Des études réalisées sur un modèle de souris hypomorphe pour Fat1, codant une protocadhérine impliquée dans la polarité cellulaire planaire, ont montré que la perte de fonction de cette protéine entraîne une déficience musculaire au niveau facial et scapulaire. Des problèmes de polarité et d'alignement des myoblastes apparaissent lors du développement de certains groupes de muscles, particulièrement au niveau des muscles plats. Cette perte de fonction de la protéine Fat1 chez la souris entraîne des défauts de structure musculaire similaires, pouvant ressembler à ceux observés dans notre cohorte. Parmi les patients étudiés, nous avons trouvé des mutations dans le gène FAT1 prédites comme pathogènes. Dix d'entre elles, faux-sens, synonymes ou introniques ont été testées à l'aide d'un plasmide rapporteur « minigène » dans des cellules HEK293 afin d'observer leur impact sur l'épissage : quatre s'avèrent responsables de modifications transcriptionnelles. On observe différents effets : création de site cryptique accepteur d'épissage ou rupture d'ESE (Exonic Splicing Enhancer) entraînant l'exclusion totale ou partielle de l'exon étudié. D'autres tests réalisés in vitro dans le même modèle cellulaire ont permis de montrer que l'utilisation d'Oligonucléotides Antisens (AON) ciblant la région contenant la mutation pouvait corriger ou reproduire les effets observés. D'une part, dans la construction mutée où l'on observe la création d'un site cryptique d'épissage, l'utilisation d'AON masquant ce site permet le maintien de l'exon. D'autre part, dans des cellules transfectées avec les constructions « minigène-WT », lorsque les AON viennent masquer les ESE touchés par la mutation, on confirme la perte du site enhancer et l'exclusion de l'exon. De ce fait, ces altérations de l'ARN messager pourraient être à l'origine de la synthèse de protéines tronquées ou mal repliées qui auraient alors un effet toxique sur les cellules. Ces résultats viennent appuyer l'hypothèse de l'implication du gène FAT1 dans une pathologie neuromusculaire similaire à la FSHD que l'on pourrait nommer « Fatopathie ».

**Mots-clefs :** FAT1, Dystrophie Facio-Scapulo-Humérale, Myopathie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D084/#317

### Révélation anténatale d'une Polykystose rénale autosomique dominante due à une disomie uniparentale maternelle du chromosome 16.

Marie Pierre AUDREZET (1), Sandrine MAESTRI (1), Cécile PRUD'HOMME GIBERT (2), Laurence MICHEL-CALEMARD (3), Romulus GRIGORESCU (4), Sandrine MARLIN (5), Sandra WHALEN (2), Claude FEREC (1)  
1. Génétique Moléculaire, CHRU, brest, France  
2. Génétique Clinique, Hôpital d'enfant Armand TROUSSEAU, paris, France  
3. Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Groupement Hospitalier Est, Bron, France  
4. Unité de Pathologie Foetale et Placentaire, Hôpital d'enfant Armand TROUSSEAU, paris, France  
5. Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital d'enfant Armand TROUSSEAU, paris, France

**Auteur correspondant :** AUDREZET Marie Pierre (marie-pierre.audrezet@chu-brest.fr)

#### Introduction

La polykystose rénale autosomique dominante (ADPKD) est une maladie génétique fréquente due à des mutations dans les gènes PKD1 ou PKD2. Bien qu'il s'agisse d'une maladie de l'adulte, il existe des formes sévères de révélation anténatale ou néonatale, souvent liées, soit à l'association d'une mutation causale avec un allèle hypomorphe, soit à la présence, en trans, de deux allèles hypomorphes chez des patients sans antécédents familiaux de maladie kystique rénale.

Nous décrivons dans ce travail, un patient ayant présenté une ADPKD de révélation anténatale due à une disomie uniparentale (UDP) du chromosome 16.

#### Patient

A 24 SA, une néphropathie fœtale sévère évoquant une polykystose rénale récessive a été mise en évidence chez une jeune femme de 32 ans, primigeste, sans antécédents particuliers.

#### Résultats

L'analyse du gène PKHD1 initiée chez les parents n'ayant pas révélé de mutation, et l'examen histologique des reins étant en faveur d'une polykystose dominante, une étude des gènes PKD1 et PKD2 a été réalisée, révélant la présence, à l'état homozygote de la variation p.Q3198L (exon 28), héritée de la maman, le père étant non porteur. L'hypothèse d'un grand réarrangement a été écartée après analyse par MLPA.

Nous avons donc étudié cinq marqueurs microsatellites du chromosome 16 à proximité du locus PKD1 et mis en évidence une disomie uniparentale d'origine maternelle.

En complétant l'étude par l'analyse de 12 autres marqueurs répartis sur l'ensemble du chromosome 16, nous avons pu conclure qu'il s'agissait d'une isodisomie maternelle partielle d'une partie du bras court du chromosome 16 associée à une hétérodisomie maternelle du reste du chromosome 16.

La variation p.Q3198L, non décrite dans la base de donnée (<http://pkdb.mayo.edu>), est localisée dans un domaine intracellulaire (PLAT) conservé et est prédite par les outils de prédiction bioinformatiques (PolyPhen-2, Align-GVGD, et Mutation Taster) pour être délétère. Il s'agit très probablement d'une mutation hypomorphe qui ne s'exprime pas à l'état hétérozygote et est responsable, lorsqu'elle est présente à l'état homozygote, d'une forme anténatale sévère de polykystose rénale.

#### Discussion

La disomie uniparentale maternelle du chromosome 16 est l'une des UDP les plus fréquemment rapportées dans la littérature, probablement en raison de la fréquence élevée des trisomies 16 dans les fausses couches spontanées. Elle peut ne s'accompagner d'aucun retentissement phénotypique, d'un simple retard de croissance, ou plus rarement de malformations et/ou d'un retard mental.



Nous rapportons, pour la première fois, une UDP du chromosome 16 dans un cas de polykystose autosomique dominante sévère diagnostiquée en anténatal.

Cette identification, qui confirme l'implication des mutations hypomorphes dans le phénotype rénal, est importante, en particulier pour le conseil génétique, le risque de récurrence d'une UDP, en dehors des cas favorisés par un remaniement chromosomique parental étant très faible.

**Mots-clés :** ADPKD,, disomie uniparentale chromosome 16, Diagnostic prénatal

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D085/#327

### Hyperméthylation maternelle de KvDMR chez une paire de jumeaux monozygotes masculins, discordants pour le syndrome de Beckwith-Wiedemann

Siham Chafai Elalaoui (1), ilham Ratbi (2), Intza Garin (3), Guiomar Perez de Nanclares (3), Abdelaziz Sefiani (1)  
1. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc  
2. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc  
3. Molecular (Epi)Genetics Lab, Hospital Universitario-Araba-Txagorritxu, Vitoria-Gazteiz, Espagne

**Auteur correspondant :** Ratbi Ilham (i.ratbi@um5s.net.ma)

Le syndrome de Beckwith -Wiedemann (BWS; OMIM 130650) est un syndrome génétique caractérisé par une viscéromégalie, une macroglossie, une prédisposition tumorale, et d'autres anomalies congénitales. BWS est généralement associé à des anomalies de la région 11p15, avec des anomalies épigénétiques, une disomie paternelle et des mutations ponctuelles. Un certain nombre de jumeaux monozygotes, surtout de sexe féminin, ont été rapportés comme cliniquement discordants pour BWS. Les études de jumeaux monozygotes discordants pour BWS nous donnent plus d'informations sur les anomalies de méthylation de l'ADN au cours du développement embryonnaire précoce. Nous rapportons ici un cas de jumeaux de sexe masculin, monozygotes discordants pour le phénotype de BWS. L'analyse de méthylation des deux domaines à empreinte en 11p15.5 (H19DMR et KvDMR) a été effectuée par MLPA méthylation spécifique (MS-MLPA) et pyroséquençage sur l'ADN extrait du sang périphérique et frottis buccal des deux jumeaux. L'hypométhylation de KvDMR a été identifiée dans les deux types cellulaires du jumeau atteint, alors que son frère non atteint avait une hypométhylation dans les cellules sanguines et un profil de méthylation normal dans le frottis buccal.

Pour le diagnostic, il est important de se rappeler que les jumeaux peuvent se partager la circulation foetale et éventuellement partager des cellules souches hématopoïétiques précoces dans le développement et, par conséquent, les jumeaux atteints et non atteints peuvent partager un épigénotype qui va ressembler à une hypométhylation partielle. Si un patient est un jumeau, il est utile d'obtenir un échantillon d'un tissu autre que le sang.

**Mots-clés :** syndrome de Beckwith -Wiedemann, jumeaux discordants, défaut de méthylation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D086/#335

### La présence de mutations homozygotes dans DNAH1, codant pour une chaîne lourde des bras internes de dynéine, entraîne la formation de flagelles spermatiques morphologiquement anormaux et une infertilité masculine primaire.

Charles Coutton (1), Mariem Ben Khelifa (2), Raoudha Zouari (3), Pierre-Simon Jouk (4), Christophe Arnoult (5), Pierre F Ray (6)

1. 1) UJF / CNRS / Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Equipe « Andrologie et Génétique », F 38700, France ; 2) UF de Génétique Chromosomique, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, CHU Grenoble, Grenoble, France  
2. 1) UJF / CNRS / Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Equipe « Andrologie et Génétique », F 38700, France ; 2) UF de Biochimie et Génétique Moléculaire, DBTP, CHU Grenoble, Grenoble, France, CHU Grenoble, GRENOBLE, France  
3. Clinique des Jasmins, Tunis, Tunisie, Clinique des Jasmins, Tunis, Tunisie  
4. UF de Génétique Clinique, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, GRENOBLE, France  
5. UJF / CNRS / Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Equipe « Andrologie et Génétique », F 38700, France, Université Joseph Fourier, GRENOBLE, France  
6. 1) UJF-Grenoble 1 / CNRS / Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Equipe « Andrologie et Génétique », F 38700, France, Université Joseph Fourier, GRENOBLE, France

**Auteur correspondant :** Ray Pierre F. (pray@chu-grenoble.fr)

Aujourd'hui, entre 10 à 15% des couples sont confrontés à des problèmes d'infertilité. Dans près de la moitié des cas, une origine masculine est retrouvée avec souvent un défaut qualitatif des spermatozoïdes. Une origine génétique est probable dans la plupart des cas mais jusqu'alors seuls quelques gènes ont pu être formellement reliés à l'infertilité masculine. L'identification et la caractérisation de nouveaux gènes sont donc primordiales pour améliorer le conseil génétique et la prise en charge des hommes infertiles.

Dans cette étude nous avons réalisé l'analyse par cartographie par homozygotie de 20 patients présentant une infertilité primaire recruté à la Clinique des Jasmins (Tunis, Tunisie). Les spermatozoïdes de ces patients combinent plusieurs anomalies morphologiques du flagelle (absent, court, courbé, enroulé et de diamètre irrégulier) regroupés sous le terme de « MMAF » (Multiple Morphological Anomalies of the Flagella). Tous les patients sont d'origine Nord-Africaine (11 Tunisiens, 7 Algériens et 2 Libyens). Douze d'entre eux sont issus d'unions consanguines au premier degré. Aucun patient n'est apparenté à part 3 frères inclus dans la cohorte.

Trois gènes candidats ont été retenus : KIF9, SPAG4 et DNAH1. Aucun variant pathogène n'a été retrouvé dans les deux premiers gènes. Cinq mutations homozygotes ont été retrouvées dans le gène DNAH1 codant pour une chaîne lourde des bras internes de dynéine exprimée dans le testicule: deux mutations situées respectivement sur des sites consensus donneurs et accepteurs d'épissage, une mutation run-on abrogeant le codon stop et une mutation faux-sens potentiellement délétère. La mutation localisée sur un site accepteur a été retrouvée chez quatre patients dont les 3 frères inclus dans la cohorte.

Des analyses de RT-PCR, immunofluorescence (IF) et microscopie électronique ont pu être réalisées chez un des frères présentant la mutation d'épissage. Il a été observé une absence totale de transcrits chez ce patient ainsi qu'une disparition complète de la protéine DNAH1 au niveau de l'axonème du flagelle du sperme confirmant le caractère pathogène du variant. Une désorganisation générale et sévère de l'axonème incluant une disparition des doublets centraux et des bras internes de dynéine a été observée. Bien que DNAH1 soit exprimée dans d'autres cellules ciliées, aucun autre symptôme relatif aux ciliopathies, à part l'infertilité, n'a été observé chez ces patients. Les analyses par RT-qPCR montrent un profil d'expression de DNAH1 prédominant au niveau testiculaire par rapport à d'autres tissus ciliés

et aux autres dynéines axonémales des bras internes proches phylogénétiquement de DNAH1.

Au final, nous avons identifié DNAH1 comme le premier gène codant pour une dynéine axonémale responsable uniquement d'infertilité masculine. L'ensemble de ces résultats suggèrent que DNAH1 est une protéine primordiale dans la biogenèse et l'organisation de l'axonème du flagelle du sperme.

**Mots-clés :** Infertilité, Flagelles, Axonème

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D087/#337

### Association neuropathie optique et surdité causée par des mutations du gène OPA1

Stéphanie Leruez (1), Dan Milea (1), Sabine Defoort-Dhellemmes (2), Estelle Colin (3), Martine Crochet (2), Vincent Procaccio (3), Marc Ferré (3), Julie Lamblin (4), Valérie Drouin (5), Catherine Vincent-Delorme (6), Guy Lenaers (7), Christian Hamel (7), Catherine Blanchet (8), Gitte Juul (9), Michael Larsen (10), Christophe Verny (11), P'ascal Reynier (3), Patrizia Amati-Bonneau (3), Dominique Bonneau (3)

1. Service d'Ophtalmologie, CHU Angers, Angers, France
2. Service d'Ophtalmologie, CHU Lille, Lille, France
3. Service de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
4. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie, CHU Lille, Lille, France
5. Service de Biochimie et Génétique, CHU Rouen, Rouen, France
6. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier d'Arras, Arras, France
7. INSERM U-1051, Université Montpellier I et II, Montpellier, France
8. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie, CHU Montpellier, Montpellier, France
9. Faculty of Health Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
10. Faculty of Health Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
11. Service de Neurologie, CHU Angers, Angers, France

**Auteur correspondant :** Leruez Stéphanie (stephanieleruez@hotmail.fr)

L'atrophie optique dominante (AOD) est une neuropathie optique héréditaire le plus souvent associée à des mutations hétérozygotes du gène OPA1. Ce gène code pour une dynamin-GTPase intervenant dans la dynamique mitochondriale et le maintien de l'ADNmt. Environ 20% des patients porteurs d'une mutation OPA1 sont atteints d'affections extra-ophtalmologiques incluant des signes neurologiques et musculaires constituant le phénotype AOD plus. Dans ce cadre, la manifestation la plus fréquente est une surdité de perception.

Afin d'évaluer la fréquence et de caractériser le type de surdité associée aux mutations OPA1, nous avons revu les dossiers de 327 patients porteurs d'une mutation OPA1 étudiés dans notre laboratoire, entre 2003 et 2011.

Parmi ces patients, 21 (6.4%) étaient atteints d'une surdité de perception. La perte auditive a débuté avant l'âge de 20 ans chez 10 patients (48%) et dans 54% des cas la surdité a précédé l'atteinte visuelle. L'atrophie optique et la surdité étaient les seuls signes chez 13/21 patients (62%) alors que d'autres signes neurologiques étaient présents chez 8/21 patients (38%).

La surdité est due, dans les cas où l'exploration audiométrique a été complète, à une neuropathie auditive.

L'analyse moléculaire a retrouvé 8 mutations différentes conduisant au phénotype AOD + surdité. Trois mutations avaient été auparavant décrites avec ce phénotype (p.Arg445His, p.Gly401Asp et p.Leu243), 2 mutations avaient été rapportées dans des cas d'atrophie optique isolée (p.Val291\_Phe328del et p.Ile463\_Phe464dup) et nous décrivons 2 nouvelles mutations (p.Arg437Glu et p.Ala357Leufs\*4).

Les corrélations phénotype-génotype montrent que les mutations fausses situées dans le domaine GTPase ont un risque 2 à 3 fois plus élevé d'entraîner un phénotype AOD plus pouvant inclure une surdité.

En conclusion, la surdité de perception due à des mutation du gène OPA1 est probablement sous estimée impliquant un examen audiométrique attentif à la recherche d'une neuropathie auditive chez les patient porteur d'une AOD.

**Mots-clés :** Atrophie optique dominante, Surdité, OPA1

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D088/#338

### Mutation de PDE6D et syndrome de Joubert : anomalies de transport au cil primaire de la protéine prénylée INPP5E

Sophie Thomas (1,2), Kevin J. Wright (3), Stéphanie Le Corre (4), Alessia Micalizzi (5,6), Marta Romani (5), Avinash Abhyankar (7), Julien Saada (8), Isabelle Perrault (1,2), Jeanne Amiel (1,2,9), Julie Litzler (9), Emilie Filhol (2,10), Nadia Elkhartoufi (9), Mandy Kwong (3), Jean-Laurent Casanova (2,7,11), Nathalie Boddaert (2,12), Wolfgang Baehr (13), Stanislas Lyonnet (1,2,9), Arnold Munnich (1,2,9), Lydie Burglen (14), Nicolas Chassaing (15), Ferehté Encha-Ravazi (1,2,9), Michel Vekemans (1,2,9), Joseph G. Gleeson (16), Enza Maria Valente (5), Peter K. Jackson (3), Iain A. Drummond (4), Sophie Saunier (2,10), Tania Attié-Bitach (1,2,9)

- INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
- Université Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, France
- Baxter Laboratory for Stem Cell Biology, Department of Microbiology and Immunology, Stanford University, Stanford, CA, USA
- Nephrology Division, Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA
- Mendel Laboratory, Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico « Casa Sollievo della Sofferenza » San Giovanni Rotondo, Italy.
- Department of Medical and Surgical Paediatric Sciences, University of Messina, Messina, Italy
- St. Giles Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, The Rockefeller University, New York, USA
- Service de Gynécologie obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, Clamart, France
- Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
- INSERM U983, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
- Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases INSERM U980, Necker Medical School, Paris, France.
- Service de radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
- University of Utah Health Science Center, Salt Lake City, UT, USA
- Hôpital Trousseau, Centre de référence des malformations et maladies congénitales du cervelet et Service de génétique, AP-HP, Paris, France
- Service de génétique médicale, CHU de Toulouse, EA-4555 UPSIII, Toulouse, France
- Neurogenetics Laboratory, Institute for Genomic Medicine, Department of Neurosciences and Pediatrics, Howard Hughes Medical Institute, University of California, San Diego, CA, USA
- Department of Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

**Auteur correspondant :** Attié-Bitach Tania (tania.attie@inserm.fr)

Mutation de PDE6D et syndrome de Joubert : anomalies de transport au cil primaire de la protéine prénylée INPP5E

Le syndrome de Joubert (JS) est caractérisé par une malformation congénitale du tronc cérébral associée à une agénésie ou hypoplasie du vermis cérébelleux donnant l'image de « dent molaire » à l'IRM cérébrale. Le JS est génétiquement hétérogène avec 20 gènes identifiés à ce jour, tous impliqués dans la biogenèse et/ou la fonction du cil primaire mais ne rendant compte que de 50% des cas environ. Afin d'identifier de nouvelles bases moléculaires, nous avons combiné séquençage haut débit d'exome et étude de liaison génétique de familles consanguines excluant les loci connus de JS.

Dans une famille consanguine pakistanaise avec trois individus atteints de JS et polydactylie, avec de façon variable des anomalies oculaires et une hypoplasie rénale, nous avons identifié une mutation d'épissage homozygote du gène PDE6D, codant une protéine de liaison aux protéines prénylées. La RT-PCR sur ARN extraits de fibroblastes de patients confirme la suppression du site accepteur d'épissage conduisant à la délétion en phase de l'exon 3 de PDE6D. Dans les cellules et tissus atteints, les cils primaires ont une morphologie normale et la protéine PDE6D tronquée est normalement localisée à la base des cils comme la protéine sauvage. Afin de confirmer la pathogénicité de cette mutation, nous avons réalisé l'extinction de pde6d chez le poisson zèbre, qui conduit à des anomalies rénales et oculaires. Ces anomalies sont partiellement

restaurées par co-injection de l'ARNm sauvage de PDE6D mais pas de l'allèle mutant.

Par une approche protéomique, nous avons identifié INPP5E comme un nouveau partenaire prénylé de PDE6D. Les mutations de INPP5E sont également responsables de JS (JBS1) et d'une autre ciliopathie, le syndrome MORM. Nous avons confirmé l'interaction entre PDE6D et INPP5E, et démontré que la protéine PDE6D tronquée présente une affinité de liaison très réduite à INPP5E, empêchant son adressage au cil primaire dans les fibroblastes et tissus mutés. Par ailleurs, la protéine PDE6D tronquée n'est plus capable de se lier à la petite GTPase ARL3, qui induit normalement la libération des cargos prénylés liés à PDE6D. Ces résultats montrent que PDE6D est nécessaire au ciblage ciliaire de INPP5E et le transport au cil pourrait concerner d'autres protéines prénylées.

Cette étude a permis d'identifier PDE6D comme un nouveau gène responsable de JS, et démontre pour la première fois l'implication du transport ciliaire dépendant de la prénylation dans la physiopathologie des ciliopathies.

**Mots-clés :** Syndrome de Joubert, PDE6D et INPP5E, Transport des protéines prénylées au cil primaire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D089/#344

### Ostéopathie striée avec sclérose crânienne : illustration de la variabilité d'expression et données d'échographie fœtale, à propos d'une famille avec 5 cas sur 3 générations

Stéphanie Arpin (1), Wim Van Hul (2), Sophie Blesson (1), Olga Esperandieu (3), Nicolas Brière (4), Annick Toutain (5)

- Service de Génétique, Centre de référence « anomalies du développement et syndromes malformatifs », Centre Hospitalier Universitaire Bretonneau, Tours, France
- Center for Medical Genetics, University Antwerp, Antwerpen, Belgique
- Service d'anatomie pathologique, Centre Hospitalier Régional d'Orléans, Orléans, France
- Echographie fœtale, Cabinet d'échographie-doppler Val de Loire, La Chaussée St Victor, France
- Service de Génétique, Centre de référence « anomalies du développement et syndromes malformatifs », Centre Hospitalier Universitaire Bretonneau, Université François Rabelais, Tours, France

**Auteur correspondant :** Arpin Stéphanie (stephanie.arpin@univ-tours.fr)

L'Ostéopathie striée avec sclérose crânienne (OSSC) est un syndrome lié à l'X, en rapport avec des mutations du gène WTX (FAM123B). Plus de 100 patients ont été décrits et la prévalence est inférieure à 0,1/1000000.

L'OSSC atteint majoritairement les femmes et est en général létale chez les garçons, en période fœtale ou néonatale. Chez les femmes, les symptômes cardinaux comprennent une sclérose des os longs et du crâne avec des striations longitudinales caractéristiques sur les radiographies. Il existe également une dysmorphie évocatrice ainsi qu'une macrocéphalie et des anomalies du palais. La symptomatologie chez le garçon est habituellement plus sévère et associée à des malformations et à un retard de développement important.

Nous rapportons ici le cas d'une nouvelle famille avec 5 sujets atteints sur 3 générations : 1 individu de sexe masculin et 4 de sexe féminin. Cette nouvelle description permet d'illustrer la variabilité clinique de ce syndrome, non seulement entre les individus de sexe opposé mais également entre les femmes d'une même famille.

Enfin, le recueil exhaustif des données d'échographie fœtale dans cette famille nous permet de discuter les diagnostics différentiels à évoquer en anténatal dans les cas survenant de novo.

**Mots-clés :** Ostéopathie striée avec sclérose crânienne, Syndrome lié à l'X, Echographie fœtale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D090/#352

### Spectre clinique des dysostoses spondylocostales : quels gènes et quelles indications?

Christel Thauvin-Robinet (1), Julien Thevenon (1), Elise Schaeffer (2), Geneviève Baujat (3), Valérie Cormier-Daire (3), Anne Dieux (4), Laurence Faivre (1), Nadège Gigot (5), Latitia Lambert (6), Martine Le Merrer (3), Olivier Pourquié (7), Jean-Baptiste Rivière (5), Judith St Onge (5)

1. FHU Translad, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Université de Bourgogne, EA4271 GAD, CHU de Dijon, Dijon, France
2. Service de génétique médicale, CHU de Strasbourg - Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Génétique Institut de Recherche Necker Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
4. Service de génétique clinique Guy Fontaine - CLAD NdF, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
5. Laboratoire de génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
6. UF de génétique médicale, Maternité régionale Adolphe Pinard, Nancy, France
7. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), CNRS (UMR 7104), Inserm U964., Université de Strasbourg, Illkirch, France

**Auteur correspondant :** Thevenon Julien (julien.thevenon@chu-dijon.fr)

**Contexte :** Les anomalies de segmentation vertébrale regroupent de nombreuses entités cliniques et une classification clinique précise a été établie. Les anomalies étagées affectant plus de 10 niveaux, associées à des anomalies costales de nombre ou de structure sont regroupées dans le groupe des dysostoses spondylocostales (DSC). Il existe 4 gènes identifiés dans le mode de transmission récessif autosomique (DLL3, MESP2, HES7, LFNG) et un gène récemment rapporté dans une famille de transmission dominante autosomique (TBX6). Les investigations cumulées génétiques n'identifient une cause moléculaire que dans environ 25% des formes isolée (ou typiques) de DSC. Peu de cas sont rapportés dans la littérature, avec environ 30 familles porteuses de mutations de DLL3, 15 familles porteuses de mutations de MESP2, 3 familles porteuses de mutations de HES7 et 1 famille par gène restant.

**Objectif :** Améliorer la connaissance clinique et radiologique des patients porteurs de mutations des gènes de DSC connus en appliquant une technologie innovante de séquençage nouvelle génération (NGS).

**Méthodes :** Une cohorte de 45 patients porteurs de DSC a été constituée via le laboratoire de génétique moléculaire. Une enquête clinique et radiologique était systématiquement demandée. Les patients ont été étudiés pour les gènes connus de DSC en NGS. Les bibliothèques ont été préparées avec le kit Nextera XT (Illumina) et séquencées sur un appareil MiSeq (Illumina). Les séquences brutes étaient alignées avec le logiciel BWA et les variants identifiés avec la suite GATK selon les bonnes pratiques recommandées. Après le contrôle de qualité des séquences, les variants ont été interprétés en fonction de leur ségrégation parentale et des données disponibles dans les bases de données publiques. Les variants ont été validés par séquençage Sanger. Un compte rendu diagnostique d'examen basé sur le NGS a été élaboré.

**Résultats :** Les données cliniques obtenues concernant les 45 patients ont permis de séparer 3 groupes : i) les patients porteurs de DSC isolée (25 patients), ii) les patients porteurs de DSC associée à des malformations pelviennes, cardiaques et urinaires (14 patients), iii) les patients porteurs de DSC associée à un myéloméningocèle +/- anomalie rénale (6 patients). La séquence cible des 5 gènes connus a été couverte à 98% par plus de 50 lectures de score de qualité supérieur à Q20. Deux nouvelles familles porteuses de mutations de LFNG, 1 famille porteuse de mutation de TBX6 et 2 familles porteuses de mutations de DLL3 ont été identifiées. Le rendement diagnostique

global peut donc être estimé à 12% (6/45) ou 25% (6/25) des cas porteurs de DSC isolées.

**Conclusions :** Le spectre clinique lié aux mutations des gènes connus est limité aux DSC isolées. Un séquençage d'exome est entrepris pour les patients restants. L'utilisation de la technologie du Nextera XT permet d'envisager l'ajout progressif des gènes identifiés au séquençage de routine.

**Mots-clés :** dysostoses spondylo-costales, séquençage de nouvelle génération, corrélations génotype-phénotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D091/#357

### syndrome hyperferritinémie-cataracte : deux nouvelles familles

Tania Dery (1), Solange Milazzo (2), Caroline Kannengiesser (3), Gilles Morin (1), Bénédicte Demeer (1), Guillaume Jedraszak (1), Audrey Vanrenterghen (4), Michèle Mathieu-Dramard (1)

1. Centre d'Activité de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
2. Centre de Compétence de Maladies Rares en Ophtalmologie, CHU d'Amiens, Amiens, France
3. Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
4. Service de Gastroentérologie Pédiatrique, CHU d'Amiens, Amiens, France

**Auteur correspondant :** DERY Tania (taniadery@gmail.com)

Le syndrome hyperferritinémie-cataracte, HHCS [OMIM 600886], a été décrit pour la première fois en 1995. A ce jour, une trentaine de familles sont rapportées. Il associe une cataracte d'évolution variable, d'aspect pulvérulent, et de localisation corticale ou nucléaire à une hyperferritinémie indépendante d'une surcharge en fer, et ne justifiant pas de saignées. Le gène FTL codant la chaîne légère de la ferritine est impliqué dans ce syndrome. L'expressivité est variable, et la transmission est autosomique dominante. Nous rapportons deux familles non apparentées concernées par cette affection.

**Famille 1 :** Le propositus est un garçon de 6 ans porteur d'une cataracte congénitale bilatérale, non opérée, et présentant une hyperferritinémie à 1600 µg/l, lors du diagnostic. Sa mère a été opérée d'une cataracte à l'âge de 27 ans et présente également des taux stables de ferritinémie aux alentours de 1900 µg/l. Les deux patients n'ont pas d'autre symptôme. Dans cette famille, il est objectivée une mutation à l'état hétérozygote dans la séquence régulatrice IRE du gène FTL codant la chaîne légère de la ferritine : c.-168G>T (+32G>T). Cette mutation déjà décrite permet de confirmer le diagnostic clinique de syndrome hyperferritinémie-cataracte.

**Famille 2 :** Un père et ses deux filles sont porteurs d'une hyperferritinémie isolée et d'une cataracte. La fille aînée âgée de 24 ans présente une cataracte congénitale peu évolutive non opérée et un taux stable de ferritine à 1800 µg/l. La seconde sœur a développé une cataracte évolutive qui doit faire l'objet prochainement d'une cure chirurgicale. L'étude du gène FTL n'a pas été souhaitée.

Sur le plan génétique, le syndrome hyperferritinémie-cataracte est associé à des mutations ponctuelles ou des délétions dans la séquence régulatrice IRE du gène FTL et ce à l'état hétérozygote. Cependant, aucune mutation du gène FTL n'a pu être mise en évidence chez certains patients présentant une histoire clinique typique, suggérant ainsi une hétérogénéité génétique.

Suite à la découverte d'une hyperferritinémie isolée, sans autre anomalie du bilan ferrique, il est d'intérêt de proposer un bilan ophtalmologique avec examen à la lampe à fente à la recherche d'une cataracte, quel que soit l'âge du patient. De même, suite à la découverte d'une cataracte à début précoce voire congénitale apparemment isolée, un bilan ferrique complet est à réaliser.

**Mots-clés :** hyperferritinémie, cataracte, gène FTL



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D092/#361

### Etat des lieux de la recherche de mutations c-Kit dans les mastocytoses à l'Institut Paoli Calmettes

Audrey REMENIERAS (1), Katia HANSENS (2), Julie AGOPIAN (2), Violaine BOURDON (1), Tetsuro NOGUCHI (1), Marie-Olivia CHANDESRIIS (3), Olivier HERMINE (3), Christine BODEMER (4), Hagay SOBOL (1), Patrice DUBREUIL (2)

1. Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
2. Inserm U891, Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille et Centre National de référence des Mastocytoses (CEREMAST), Marseille, France
3. Service d'Hématologie Adulte et Centre National de référence des Mastocytoses (CEREMAST), Hôpital Necker – Enfants Malades, Paris, France
4. Service de Dermatologie et Centre National de référence des Mastocytoses (CEREMAST), Hôpital Necker – Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Remenieras Audrey (remenieras@ipc.unicancer.fr)

Les mastocytoses sont des maladies orphelines qui se définissent par une accumulation et une prolifération anormales de mastocytes dans au moins un organe. Les mastocytoses cutanées prédominent chez l'enfant avec une régression spontanée fréquente à la puberté. Chez l'adulte, les mastocytoses systémiques indolentes sont les plus fréquentes, restent chroniques (pas de régression spontanée) et peuvent altérer la qualité de vie sous l'effet des symptômes de dégranulation. Les formes agressives sont beaucoup plus rares mais menacent rapidement le pronostic vital justifiant une prise en charge thérapeutique ciblée rapide. L'origine des mastocytoses n'est pas connue mais des mutations génétiques du proto-oncogène c-Kit sont retrouvées.

Depuis plusieurs d'années, le CEREMAST (centre de référence des mastocytoses) de l'hôpital Necker en collaboration avec le laboratoire d'oncogénétique moléculaire l'IPC réalise une recherche de mutations sur certains exons du gène c-Kit lors de suspicions de mastocytoses.

Nous présentons ici un bilan des examens réalisés depuis la mise en place de ces tests avec une corrélation génotype-phénotype ainsi que l'organisation interne du laboratoire de l'IPC qui s'engage dans l'accréditation des laboratoires avec la norme EN ISO 15189. Nous présentons également un arbre décisionnel permettant de standardiser les indications de tests génétiques au sein de la communauté médicale ainsi que la prise en charge médicale.

**Mots-clefs :** Mastocytoses, CEREMAST, IPC

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D093/#362

### Syndrome LEOPARD identifié devant une cardiomyopathie induite par un neuroblastome

Mireille Irabe (1), Dominique Caillet (2), Abdelhafid Edmar (3), Cécile Stoven (3), Mathilde Jehanne (4), Karim Jamal-Bey (3), Michel Renouil (3), Daniel Sidi (5), Hélène Cavé (6), Marie Line Jacquemont (1)

1. Génétique, CHU Réunion - Site Saint Pierre, Saint Pierre, France
2. Cardiologie, CHU Réunion - Site Saint Pierre, Saint Pierre, France
3. Pédiatrie, CHU Réunion - Site Saint Pierre, Saint Pierre, France
4. Hémato Oncologie Pédiatrie, CHU Réunion - Site Saint Denis, Saint Denis, France
5. cardiologie pédiatrique, APHP Necker, Paris 15, France
6. Génétique Moléculaire, APHP Robert Debré, Paris 19, France

**Auteur correspondant :** Irabe Mireille (Mireille.irabe@chu-reunion.fr)

Le syndrome LEOPARD (SL) est un syndrome rare de la famille des RASopathies qui se transmet sur un mode autosomique dominant, avec une grande variabilité d'expression clinique et une hétérogénéité génétique. Le SL est dû à des mutations germinales des gènes PTPN11, BRAF ou RAF1. Quatre-vingt cinq pour cent des patients ont une mutation dans PTPN11 avec 2 mutations récurrentes, c.836A > G (p.Tyr279Cys), et c.1403C > T (p.Thr468Met), identifiées dans environ 65% des cas. L'acronyme LEOPARD désigne les principaux symptômes, à savoir des Lentiginos multiples, des anomalies de conduction Electrocardiographiques, un hypertélorisme Oculaire, une sténose Pulmonaire, des Anomalies génitales, un Retard de croissance et un Déficit auditif neurosensoriel. Bien qu'elle ne soit pas incluse dans l'acronyme, la cardiomyopathie hypertrophique (CMH) est l'anomalie cardiaque la plus fréquemment observée. Comme dans la plupart des RASopathies, il existe dans le SL un risque de prédisposition aux pathologies malignes, mal chiffré, avec un profil qui semble identique à celui du syndrome de Noonan. A ce jour, ont été rapportés des leucémies myéloïdes aiguës, une leucémie lymphoblastique aiguë, un mélanome, un médulloblastome et un neuroblastome.

Nous rapportons le cas d'un garçon adressé à 5 mois pour une CMH découverte devant un essoufflement aux biberons. La dysmorphie du patient et de sa mère a fait évoquer le diagnostic de syndrome de Noonan. La mutation p.Thr468Met de l'exon 12 du gène PTPN11 a été mise en évidence à l'état hétérozygote chez le cas index, sa mère et son demi-frère maternel (aucun des deux n'ayant de CMH). La CMH a été traitée par  $\beta$ -bloquants. A l'âge d'un an, un neuroblastome surrénalien gauche de stade IV a été diagnostiqué devant des métastases orbitaires. L'enfant a été traité selon les recommandations du protocole Européen de traitement des neuroblastomes de haut risque HRNBL1. Sept mois après le début du traitement du neuroblastome, la CMH avait régressé, permettant l'arrêt des  $\beta$ -bloquants.

La cardiomyopathie dilatée ou hypertrophique induite par les catécholamines est une entité clinique connue. Elle est le plus souvent en rapport avec un phéochromocytome. La CMH réversible après traitement d'un neuroblastome a déjà été rapportée, mais jamais dans le cadre d'un SL. De façon intéressante, Fahrner et al. ont décrit en 2012 le cas d'un nouveau-né ayant un SL avec une CMH congénitale sévère, rapportée à l'association de la mutation p.T468M de PTPN11 et d'un variant dans SOS1, avec des catécholamines urinaires initialement élevées sans neuroblastome à l'imagerie, et secondairement normalisées.

Nous rapportons pour la première fois l'association d'une CMH réversible, d'un neuroblastome et d'un SL. Cette association nous incite à rester prudent sur l'origine de la CMH dans les RASopathies et à doser dans tous les cas les catécholamines urinaires, afin de ne pas méconnaître une pathologie tumorale.

**Mots-clefs :** Syndrome LEOPARD, Neuroblastome, Cardiomyopathie hypertrophique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D094/#363

### Phénotype clinique reconnaissable des NBIA (Neurodegeneration With Brain Iron Accumulation) liées aux mutations du gène C19orf12

Alexandra Afenjar (1), Thierry Billette de Villemeur (2), Brigitte Chabrol (3), Domitille Gras (4), Anne Legall (5), Fanny Mochel (6), Frédéric Sedel (7), Nathalie Villeneuve (8), Diana Rodriguez (2), Lydie Burglen (9)

1. CRMR des malformations et maladies congénitales du cervelet, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. CRMR maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital La Timone, Marseille, France
4. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. service de Génétique, Hôpital Trousseau, INSERM U676, Paris, France
6. Département Génétique, UPMC, Inserm UMR S975, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Service de Neurologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Henri Gastaut, Marseille, France
9. Service de Génétique, CRMR des malformations et maladies congénitales du cervelet, Hôpital Trousseau, INSERM U676, Paris, France

**Auteur correspondant :** Afenjar Alexandra (alexandra.afenjar@trs.aphp.fr)

Les NBIA sont des maladies neurodégénératives définies par la présence de dépôts de fer au niveau des noyaux gris centraux se traduisant à l'IRM cérébrale par un hyposignal T2, FLAIR et T2\*. Ces pathologies sont génétiquement hétérogènes et d'expression clinique éminemment variable; début dans l'enfance ou à l'âge adulte, rapidement évolutives ou lentement progressives, signes moteurs variés (chorée, dystonie focale, généralisée, syndrome parkinsonien, ataxie) dégradation cognitive et/ou psychiatrique et atteintes associées diverses (atrophie optique, neuropathie périphérique, surdité...). Depuis 2000 l'identification de gènes responsables de ces maladies (8 actuellement) a permis d'améliorer le démembrement de ce groupe de pathologies et d'en préciser les phénotypes. Comme souvent la découverte des gènes a également révélé la grande variabilité clinique à l'intérieur de chaque type de NBIA.

En octobre 2011 Hartig et al. ont étudié une population polonaise homogène de NBIA et identifié par homozygosity mapping des mutations d'un nouveau gène autosomique récessif: the orphan gene C19orf12 codant pour une protéine de localisation mitochondriale. Les auteurs ont nommé ce nouveau type de NBIA : MPAN (Mitochondrial membrane Protein Associated Neurodegeneration). Sur 52 familles sélectionnées sur la présence d'un hyposignal des globes pâles 36% présentait des anomalies de C19orf12 avec une mutation majoritaire liée à un effet fondateur probable; la délétion c.204\_214del11. Chez les 24 patients mutés la maladie débute entre 4 et 20 ans par des difficultés de langage et d'équilibre. Par la suite apparaissent des troubles dystoniques, un syndrome parkinsonien et pyramidal et des troubles psychiatriques. Une atrophie optique sévère est quasi constante. Une neuropathie axonale motrice est retrouvée chez la moitié des patients. L'IRM retrouve un hyposignal T2 et FLAIR des pallidums et de la substance noire.

Afin de déterminer si l'implication du gène C19orf12 est fréquente dans notre population de patients NBIA et si le phénotype clinique est similaire à celui décrit par Hartig nous avons sélectionnés 33 patients non apparentés adressés pour séquençage de PLA2G6 sans anomalie retrouvée de ce gène.

9 patients présentaient un phénotype compatible avec une MPAN comme décrit par Hartig et 24 un tableau atypique (début très précoce 40 ans, absence d'hyposignal des GP, d'atrophie optique et/ou de neuropathie axonale motrice)

Nous avons identifiés des mutations de C19orf12 chez 5 des 9 patients avec phénotype similaire à une MPAN et aucune mutation de C19orf12 chez les 24 patients avec un tableau atypique.

**Mots-clés :** NBIA, C19orf12, MPAN

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D095/#366

### Nouvelles mutations dans les gènes PRPS1 et SMPX dans des familles françaises de surdité liée à l'X

Laurence Jonard (1), Charlotte Détriché (2), Geneviève Lina-Granade (3), Hélène Dollfus (4), Souad Gherbi (2), Crystel Bonnet (5), Natalie Loundon (6), Eréa Noel Garabedian (6), Françoise Denoyelle (6), Sandrine Marlin (2)

1. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Centre de référence des surdités génétiques, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Service ORL, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
4. Centre de référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique, Hôpital civil, Strasbourg, France
5. INSERM UMRS1120, Institut de la Vision, Paris, France
6. Service ORL, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Jonard Laurence (laurence.jonard@nck.aphp.fr)

La surdité isolée liée à l'X est une maladie rare, probablement sous-estimée. Jusqu'à présent, trois gènes ont été impliqués dans cette maladie : POU3F4, SMPX et PRPS1.

Jusqu'en 2010, POU3F4 était le seul gène impliqué dans la surdité isolée liée à l'X. Les patients mutés pour le gène POU3F4 (DFNX2) présentent le plus souvent une surdité progressive mixte ou de perception associée à un gusher périlymphatique, lié à des anomalies du conduit auditif interne visibles sur le scanner des rochers.

A l'inverse, les patients mutés pour les gènes SMPX (DFNX4) et PRPS1 (DFNX1) ne présentent pas d'anomalie au scanner des rochers. SMPX est un gène codant pour une petite protéine musculaire jouant un rôle important dans la protection des membranes cellulaires contre le stress mécanique. PRPS1 code une phosphoribosylpyrophosphate synthétase impliquée dans la biosynthèse des purines et des pyrimidines.

Nous avons testé une large cohorte de familles françaises atteintes de surdité isolée et compatibles avec un mode de transmission lié à l'X pour les deux gènes PRPS1 et SMPX, par séquençage Sanger.

Nous rapportons ici quatre familles avec des mutations dans le gène PRPS1 (une famille avec une nouvelle mutation faux-sens) ou le gène SMPX (trois familles: une nouvelle mutation d'un site d'épissage et deux nouvelles mutations faux-sens). Nous présentons des données cliniques précises sur les patients de sexe masculin et les femmes transmettrices.

L'analyse des gènes SMPX et PRPS1 doit être envisagée lorsque le mode de transmission lié à l'X n'est pas exclu dans une surdité neurosensorielle isolée.

**Mots-clés :** Surdité liée à l'X, PRPS1, SMPX

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D096/#368

### Mutations non-sens du gène OTOGL chez un enfant atteint de surdité légère à moyenne.

Crystel BONNET (1), Malek Louha (2), Natalie LOUNDON (3), Nicolas Michalski (4), Elisabeth Verpy (4), Luce Smaghe (5), Jean Pierre Hardelin (4), Isabelle Rouillon (3), Laurence JONARD (6), Remy Couderc (2), Souad GHERBI (7), Eréa Noel GARABEDIAN (3), Françoise DENOYELLE (3), Christine Petit (4), Sandrine MARLIN (7)

1. INSERM UMRS1120, Institut de la Vision, Paris, France
2. Laboratoire de Biochimie, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service ORL, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Inserm UMRS1120, Institut Pasteur, Paris, France
5. Inserm UMRS1120, Institut de la vision, Paris, France
6. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Centre de référence des surdités génétiques, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** BONNET Crystel (crystel.bonnet@orange.fr)

La surdité est caractérisée par une grande hétérogénéité génétique. Nous rapportons l'identification, par séquençage de l'exome, de deux mutations non-sens différentes (c.1558C> T; p.Q520\* et c.2773C> T; p.R925\*) dans le gène OTOGL (otogelin-like), chez un enfant atteint de surdité isolée légère à modérée. L'établissement des génotypes parentaux nous a permis de conclure que ces mutations sont présentes à l'état hétérozygote composite chez le patient. Nos résultats confirment l'implication récente de ce gène dans deux familles non apparentées (Yariz et al., 2012). En outre, nos données cliniques établissent pour la première fois que la membrane de Corti et / ou les cellules ciliées externes sont défectueuses dans cette forme de surdité.

**Mots-clefs :** Surdité autosomique récessive, OTOGL, exome

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D097/#369

### Schwannomatose multiple diffuse : penser KRAS

Juliette Piard (1), Ludivine Chamard (2), Hélène Cave (3), Lionel Van Maldergem (1)

1. Centre de Génétique Humaine, Hôpital Saint Jacques, Besançon, France
2. Service de Neurologie 1, Hôpital Jean Mingo, Besançon, France
3. Service de Biologie Moléculaire, Hôpital Robert Debré, Paris, France

**Auteur correspondant :** PIARD Juliette (juliette.piard@gmail.com)

Le schwannome est une tumeur bénigne de la gaine des nerfs périphériques. Les schwannomes multiples sont rares et se rencontrent essentiellement sous deux formes : dans le cadre de la neurofibromatose de type 2 ou ils se manifestent surtout par un neurinome bilatéral du nerf acoustique ou dans celui d'une schwannomatose caractérisée par le développement de schwannomes multiples en l'absence de schwannomes vestibulaires bilatéraux. De manière inconstante, des mutations de NF2 codant la merline sont retrouvées dans la première affection et des mutations de SMARCB1 dans la seconde. En dehors de ces deux entités syndromiques, la récurrence de schwannome a été exceptionnellement rapportée dans d'autres syndromes. Parmi eux, une variante du syndrome Noonan liée à KRAS chez une unique patiente. Nous décrivons ici une deuxième observation de cette singulière association.

Il s'agit d'une patiente de 45 ans née d'un couple non apparenté. Ses antécédents sont marqués par un retard psychomoteur. La marche ne sera acquise qu'à l'âge de 2 ans, et elle présentera des difficultés d'apprentissages nécessitant une scolarisation adaptée. On note également un strabisme et une puberté tardive n'intervenant qu'à l'âge de 21 ans. Elle développe une schwannomatose à l'âge de 37 ans. Elle bénéficie d'une exérèse chirurgicale de ses schwannomes multiples (bras droit, cuisse droite, vessie, intracrâniens) et garde une épilepsie séquellaire. A l'examen clinique à l'âge de 45 ans, sa taille est de 153 cm (-1.8 DS), son poids de 41 kg (-2.2 DS) et son périmètre crânien de 54.5 cm (-0.5 DS). Un schwannome de la queue de cheval et un de la cuisse droite sont en attente de résection. Son phénotype évoque le syndrome de Noonan : oreilles bas implantées, ptosis bilatéral, télécanthus, ptérygium colli, implantation basse des cheveux dans la nuque, pectus excavatum et naevi multiples.

Le caryotype lymphocytaire est 46, XX. La présence de 2.6 % de noyaux monosomiques en FISH a fait un temps évoquer la possibilité d'une mosaïque turnerienne de bas grade. Le séquençage de PTPN11 est revenu négatif. Le bilan de coagulation montre une diminution modérée du facteur XI de la coagulation (54% pour une norme entre 65 et 150), anomalie habituelle des rasopathies. Sur base de l'observation rapportée antérieurement citée, nous prescrivons le séquençage direct de KRAS qui met à jour une hétérozygotie pour la mutation c.40G>A (p.Val14Ile) qui siège dans le premier exon.

Ces deux observations de patientes Noonan non apparentées suggèrent que les mutations germinales de KRAS peuvent être à l'origine d'une prédisposition aux tumeurs des nerfs périphériques. On peut donc s'interroger sur la surveillance souhaitable des patients mutés. Rechercher une éventuelle dysmorphie faciale ou un retard statural chez des patients suivis pour la récurrence de ce type de tumeur pourra aussi s'avérer contributif.

**Mots-clefs :** Schwannomatose, Noonan, KRAS

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D098/#374

### Poursuite de la caractérisation du spectre clinique de la dysostose mandibulo-faciale de type Guion-Almeida à partir d'une nouvelle série de 24 cas

Daphné Lehalle (1), Christopher T. Gordon (2), Géraldine Goudefroye (3), Myriam Oufadem (2), Lucile Boutaud (2), Jean-Luc Alessandri (4), Neus Baena (5), Geneviève Baujat (1), Clarisse Baumann (6), Odile Boute-Benejean (7), Roseline Caumes (1), Charles Decaestecker (7), Dominique Gaillard (8), Alice Goldenberg (9), Marie Gonzales (10), Muriel Holder Espinasse (11), Marie-Line Jacquemont (4), Didier Lacombe (12), Sylvie Manouvrier-Hanu (13), Sandrine Marlin (1), Michèle Mathieu-Dramard (14), Gilles Morin (14), Laurent Pasquier (15), Florence Petit (16), Marlène Rio (1), Robert Smigiel (17), Christel Thauvin-Robinet (18), Alexandre Vasiljevic (19), Alain Verloes (6), Valérie Malan (1), Loïc de Pontual (20), Arnold Munnich (1), Michel Vekemans (1), Stanislas Lyonnet (1), Tania Attié-Bittach (1), Jeanne Amiel (1)

1. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. INSERM U781, Université Paris-Descartes, Institut IMAGINE, Paris, France
3. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France
4. Pôle Enfants, Hôpital Félix Guyon, Saint Denis, France
5. Centro Diagnóstico, Corporación Sanitaria Parc Taulí, Barcelone, Espagne
6. Service de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
7. Service de Génétique clinique, Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
8. Service de Génétique, Hôpital Maison Blanche, Reims, France
9. Service de Génétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
10. Service de Génétique et embryologie médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
11. Service de Génétique médicale, Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
12. Service de Génétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
13. Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
14. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Nord, Amiens, France
15. Service de Génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
16. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
17. Genetyki Medycznej, Katedra i Zakład, Wrocław, Pologne
18. Service de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
19. Département de Pathologie et Neuropathologie, Groupement hospitalier Est, Bron, France
20. Unité INSERM U781, Université Paris-Descartes, Institut IMAGINE, Paris, France

**Auteur correspondant :** Amiel Jeanne (jeanne.amiel@inserm.fr)

La dysostose mandibulo-faciale de type Guion Almeida (DMFGA; MIM 610536) peut associer au micro-rétrognathisme avec hypoplasie malaire une malformation de l'oreille externe, une surdité de transmission et/ou de perception, une fente palatine, une atrésie des choanes, une cardiopathie, des anomalies de l'axe radial, une atrésie de l'œsophage, une microcéphalie, une déficience intellectuelle et une épilepsie. C'est une entité clinique reconnaissable et longtemps méconnue en raison de sa grande variabilité d'expression émergeant à de nombreux diagnostics différentiels (CHARGE, syndrome de Feingold, OAV, autres dysostoses mandibulo-faciales). La DMFGA est due à une perte de fonction par mutation ou délétion hétérozygote du gène EFTUD2. Le gène est localisé en 17q21.31 et code pour un constituant majeur du spliceosome.

Nous rapportons 24 nouveaux cas et passons en revue la littérature afin de définir le spectre clinique imputable à une perte de fonction d'EFTUD2. Ainsi, si la triade dysostose mandibulo-faciale, anomalie du pavillon des oreilles (parfois asymétrique) et déficit intellectuel est constante, la microcéphalie ne l'est pas. Nous précisons la morphologie faciale à différents âges de la vie. Nous rapportons pour la première fois des malformations rénales et cérébrales. La malformation extra-crânienne la plus fréquente dans notre série est l'atrésie de l'œsophage, présente chez 50% des patients ; suivent les cardiopathies congénitales (32%) et les anomalies squelettiques. Parmi ces dernières, les plus fréquentes, déjà décrites, concernent les pouces et le rachis cervical ; cette série étend ce spectre à des malformations costales, sacrées, sternales, et des anomalies mineures des extrémités. Enfin, les anomalies des canaux semi-circulaires sont

plus fréquentes qu'initialement rapportées (11 patients sur 12 ayant bénéficié d'un scanner).

Au total, la DMFGA est probablement beaucoup plus fréquente que d'autres DMF syndromiques comme les syndromes de Nager ou Miller. L'étendue du spectre malformatif explique la variabilité des présentations cliniques et la difficulté à définir le syndrome. La dysmorphie faciale est une aide précieuse pour évoquer le diagnostic.

**Mots-clés :** EFTUD2, Spliceosome, Dysostose mandibulofaciale



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D099/#377

### Epidémiologie moléculaire des hypopituitarismes congénitaux dans une cohorte de patients marocains

Marie-Laure Sobrier (1), Nabila Fritez (2), Hind Iraqui (3), Marie-Pierre Vié-Luton (1), Irène Netchine (4), Abdessamad El Annas (2), Jacques Pantel (1), Natahalie Collot (5), Marie Legendre (5), Abdelmjid Chraïbi (3), Abdelkrim Kadiri (3), Serge Amselem (1,5), Latifa Hilal (2).

1. Inserm U933, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Laboratoire de Biologie Générale et zoologie, Faculté des Sciences, Rabat, Maroc
3. Service d'Endocrinologie, Hôpital Ibn Sina, Rabat, Maroc
4. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France

**Auteur correspondant :** Sobrier Marie-Laure (marie-laure.sobrier@inserm.fr)

**Contexte/Objectifs :** Les retards de croissance d'origine endocrinienne sont une pathologie rare pour laquelle une grande partie des cas n'ont à ce jour pas de cause moléculaire identifiée. Le but de cette étude est de documenter les bases moléculaires des retards de croissance dans la population marocaine.

**Patients :** Cent patients marocains appartenant à 80 familles (54 avec un déficit isolé en hormone de croissance (IGHD, Isolated Growth Hormone Deficiency), 26 avec un déficit multiple en hormones pituitaires (CPHD, Combined Pituitary Hormone Deficiency) sont inclus dans cette étude. L'ADN de chaque cas index a été séquencé pour des gènes candidats sélectionnés selon un arbre décisionnel qui prend en compte les données cliniques comprenant le déficit hormonal, l'IRM de la région pituitaire et les anomalies associées décrites : il s'agit de GH, GHRHR, GHSR, PROP1, POU1F1, HESX1, LHX3, LHX4 et SOX3.

**Résultats :** Dans 8 familles, chez 14 patients, 5 mutations délétères ont été identifiées. Dans le groupe IGHD, 3 gènes sont impliqués : le gène GH (une délétion homozygote de 6.7Kb et une mutation hétérozygote, p.Ile179Met), le gène GHRHR (une mutation homozygote d'épissage, c.57+2T>G), le gène GHSR (une même mutation hétérozygote dans trois familles, p.Ala204Glu). Une prévalence importante de mutations est donc observée dans le gène GHSR pour la population marocaine (6,1%, 3/49, 49 étant le nombre de patients IGHD avec une post-hypophyse en place). Dans le groupe CPHD seul le gène PROP1 est impliqué dans 2 familles portant la même mutation homozygote, p.Arg73Cys. Deux variations dont l'effet délétère reste à démontrer concernent le gène GH (p.Ser25Arg) et le gène LHX4 (p.Lys40Asn) ; les deux patients du groupe IGHD sont porteurs hétérozygotes. Deux polymorphismes hétérozygotes ont été identifiés : dans le gène LHX3 (p.Val140Met, rs61735423, polymorphisme fréquent dans la population maghrébine : 10% (notre laboratoire) vs 2,9% (données dbSNP)) et dans le gène GHSR (p.Ala358Thr, rs150344113). La prévalence des mutations dans cette cohorte marocaine de déficit pituitaire est de 10% (8/80) dont 75% (6/8) sont des cas familiaux. Aucune variation ou mutation n'a été trouvée chez les patients présentant une post-hypophyse ectopique qui représentent 15% des IGHD et 50% des CPHD.

**Conclusion :** Les résultats de criblage de cette cohorte marocaine sont en accord avec les études précédentes sur des populations différentes montrant une très faible présence de mutation dans les gènes POU1F1, HESX1, SOX3, LHX3 et LHX4, d'autre part les mutations sont préférentiellement identifiées dans les cas familiaux. De plus, la mutation p.Arg73Cys dans le gène PROP1 est la première à rechercher pour les CPHD avec post-hypophyse en place dans cette population. Pour la grande majorité des patients d'autres gènes doivent être responsables du déficit antéhypophysaire, ces gènes encore inconnus seront en partie découverts par l'utilisation des technologies de séquençage haut débit.

**Mots-clés :** retard de croissance, séquençage gènes candidats, patients marocains

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D100/#380

### Les mutations delta-exon9 de la Cullin-3 sont responsables de formes sévères d'Hypertension Hyperkaliémique Familiale

Hélène Louis-dit-Picard (1), Sabrina Latrèche (1), Nirubiah Thurairajasingam (2), Colette Auzan (3), Béatrice Fiquet (4), Raymond Frayssinet (5), Arnaud Garnier (6), Veronika Jendruchova (7), Thierry Lobbedez (8), Loreto Martorell (9), Geert Mortier (10), Ivana Pela (11), Sophie Taque (12), Rosa Vargas-Poussou (13), Eric Clauser (1), Xavier Jeunemaitre (3)

1. INSERM U970, Centre de Recherche Cardiovasculaire - PARCC, PARIS, France
2. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou - AP-HP, PARIS, France
3. INSERM U970, Centre de Recherche Cardiovasculaire - PARCC, PARIS, France
4. Service d'hypertension et médecine vasculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou - AP-HP, PARIS, France
5. Service de Néphrologie, Centre Hospitalier Général d'Aix en Provence, AIX EN PROVENCE, France
6. Service de Néphrologie, Hopital des enfants, Hopital Paule de Viguier, TOULOUSE, France
7. Service of Nephrology, Children's University Hospital Bratislava, BRATISLAVA, Slovaquie
8. Service de Néphrologie, Hôpital Clemenceau, CAEN, France
9. Genética Molecular, Hospital Sant Joan de Déu, BARCELONE, Espagne
10. Department Medical Genetics, Antwerp University and Ghent University, ANVERS, Belgique
11. Department of Paediatrics, University of Florence, FLORENCE, Italie
12. Service de néphrologie, néphrologie pédiatrique, hémodialyse et transplantation, CHU de Rennes, RENNES, France
13. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France

**Auteur correspondant :** Hélène LOUIS dit PICARD (helene.louis-dit-picard@inserm.fr)

L'hypertension hyperkaliémique familiale (HHF) ou syndrome de Gordon est une forme rare d'hypertension artérielle. En 2001, deux gènes, WNK1 et WNK4, ont été identifiés comme responsables de la pathologie, en régulant le transport ionique du rein. En 2012, un laboratoire américain ainsi que le nôtre, ont identifié deux autres gènes, KLHL3 et CUL3, comme responsables de la pathologie. Ces deux gènes inattendus font partie d'un complexe E3 ubiquitine-ligase impliqué dans la dégradation de protéines cibles vers le protéasome après ubiquitination, parmi celles-ci les kinases WNK1 et WNK4.

Nous avons identifié 22 mutations faux-sens différentes sur le gène KLHL3 chez 27 cas index de HHF. Parmi ces 27 cas, 19 correspondent à une transmission autosomique dominante, quatre à une transmission récessive et quatre sont des mutations de novo. Il existe une grande variabilité phénotypique, les cas récessifs ayant un âge plus précoce au diagnostic (8,4 vs 35,9 ans), mais des niveaux de pression artérielle et de kaliémie-chlorémie semblables.

Nous avons aussi identifié chez neuf cas index, sept mutations faux-sens sur le gène CUL3 codant pour la Culline 3. Toutes sont localisées aux sites d'épissage de l'exon 9 aboutissant à une perte en phase de 57 acides aminés. Cinq cas sont porteurs d'une mutation à l'état de novo et trois présentent une transmission autosomique dominante avérée. Ces patients sont caractérisés par un âge au diagnostic plus précoce (6,6 ± 8,3 ans) et un phénotype sévère (moyenne K<sup>+</sup> = 7,1 ± 1,1 mmol/L ; Cl<sup>-</sup> = 112 ± 4 mmol/L ; PAS = 160 ± 22 ; PAD = 98 ± 13 mmHg). Les patients porteurs d'une mutation CUL3 ont un phénotype plus marqué que celui observé chez les patients porteurs de mutations sur l'un des quelconques autres gènes responsables de HHF (WNK1, WNK4, KLHL3), suggérant ainsi d'autres atteintes que le transport rénal ionique, en particulier vasculaire. Pour certains patients, un retard de croissance a été observé, conséquence possible de la forte acidose métabolique et/ou d'un effet de la mutation CUL3-delta-exon9 sur la demi-vie de protéines impliquées dans le développement.

Nous montrons par co-immunoprécipitation l'interaction entre KLHL3 et CUL3 et le fait que la mutation CUL3-Δ9 ne modifie pas cette

interaction. L'analyse par BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer), montre que l'interaction directe entre KLHL3-CUL3-delta-exon9 est plus forte que celle obtenue entre KLHL3-CUL3-wt. La mutation CUL3 delta-exon9 entraîne aussi une augmentation de la neddylation de la Culline 3, suggérant une capacité accrue de dégradation de ses partenaires protéiques vers le protéasome.

En conclusion, il existe une assez grande hétérogénéité phénotypique de l'HHF, en grande partie expliquée par l'hétérogénéité génétique. Les mutations CUL3 delta-exon9 provoquent une atteinte sévère de ces patients, ouvrant la voie à des recherches supplémentaires sur les modifications de ce complexe E3 CRL ubiquitine ligase.

**Mots-clefs** : Hypertension, Génotype-Phénotype, Maladie rare

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D101/#382

### Etude du gène IRF6 chez 58 patients indépendants présentant un syndrome de Van der Woude, un syndrome des pterygium poplités ou une fente labio-palatine isolée

Marie Legendre (1), Florence Dastot (1), Nathalie Collot (1), Sandrine Marlin (2), Mickaël Quentric (3), Arnaud Picard (4), Marie-Paule Vazquez (4), Serge Amselem (1)

1. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
3. Inserm UMRS872 Equipe 5, Centre de Recherches des Cordeliers, Université Paris Descartes, Paris, France
4. Service de Chirurgie maxillo-faciale et plastique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France

**Auteur correspondant** : Legendre Marie (marie.legendre@trs.aphp.fr)

Les mutations du gène IRF6 sont responsables du syndrome de Van der Woude (VWS, 1 naissance sur 30 000) et du syndrome des pterygium poplités (PPS). Ces deux syndromes associent une fente, labio-palatine ou palatine isolée, à des fistules salivaires de la lèvre inférieure. Le syndrome des pterygium poplités associe également des anomalies des membres inférieurs (pterygium poplité, syndactylies, pieds équins), des organes génitaux, des synéchies orales et des ankyloblépharons. La transmission de ces syndromes est dominante par haploinsuffisance pour le VWS et par effet dominant négatif pour le PPS. La contribution d'IRF6 aux fentes labio-palatines isolées est discutée.

L'objectif de ce travail était d'évaluer la contribution du gène IRF6 au sein de 58 familles dont le cas index présentait un VWS (n=40), un PPS (n=9) ou une fente labio-palatine isolée sans fistules labiales (n = 9).

Des mutations hétérozygotes ont été mises en évidence chez 33 des patients présentant un VWS (83 %), 7 des patients avec un PPS (78%) et 1 patient avec fente labio-palatine isolée mais avec un antécédent familial de fistules labiales (11%). Chez les cas index présentant un VWS, 13 des mutations identifiées conduisent probablement à l'absence de production de protéine, principalement par un mécanisme de mRNA decay (5 non-sens, 5 décalant le cadre de lecture, 1 délétion totale, 1 mutation d'épissage, 1 concernant un site de branchement). Dix-neuf patients portaient des mutations faux-sens (14 situées dans le domaine de liaison à l'ADN et 5 dans le domaine SMIR d'interaction protéine-protéine). Un patient portait une mutation du 5'UTR (uORF). Sept des 9 patients avec un PPS portaient une mutation faux-sens concernant l'Arginine 84, résidu crucial pour la fixation du facteur de transcription à l'ADN.

L'étude du phénotype du parent transmetteur de la mutation (13 familles VWS et 2 familles PPS) a montré une pénétrance complète. L'expressivité était variable au sein des familles VWS : 8 parents présentaient également un VWS, mais 5 ne présentaient que des anomalies mineures (fistules labiales, synéchie). Les mutations sont survenues de novo chez 7 des patients VWS et 1 patient PPS.

Cette étude souligne la très importante contribution des mutations de IRF6 dans le VWS et le PPS, et l'intérêt de cribler les régions non codantes de ce gène, notamment le 5'UTR (uORF) et les sites potentiels de branchement. Les mutations d'IRF6 sont en revanche rares dans les fentes labio-palatines isolées, sans antécédent personnel ou familial de fistule labiale.

**Mots-clefs** : fente labio-palatine, pterygium poplité, développement de la face

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D102/#385

### Contribution des mutations du gène *GLI2* aux déficits antéhypophysaires et description du spectre phénotypique associé

Marie Legendre (1), Florence Dastot (1), Nathalie Collot (2), Enzo Cohen (3), Stéphanie Friszer (3), Aude Soleyran (2), Chantal Lacombe (2), Alexandra Afenjar (4), Louise Brueton (5), Sylvie Cabrol (6), Jean Furioli (7), Anne-Marie Guerrot (8), Juliane Leger (9), Bruno Leheup (10), Catherine Naud-Saudreau (11), Sylvie Nivot (12), Chirag Patel (13), Michel Polak (14), Raphaël Rappaport (14), Sophie Rose (2), Dominique Simon (9), Pierre Sizonenko (15), Amnon Zung (16), Marie-Laure Sobrier (3), Serge Amselem (1)

1. Inserm UMR\_S933 / UPMC et U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
3. Inserm UMR\_S933 / UPMC, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
5. West Midlands Regional Genetics Service, Birmingham Women's Hospital, Birmingham, Royaume-Uni
6. Explorations fonctionnelles endocriniennes, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
7. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Mantes-La-Jolie, Mantes-La-Jolie, France
8. Unité de Génétique clinique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
9. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France
10. Service de Médecine infantile, CHU de Nancy, Vandoeuvre, France
11. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital du Scorff, CHBS, Lorient, France
12. Unité fonctionnelle d'Endocrinologie pédiatrique, CHU de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France
13. West Midlands Regional Genetics Service, Birmingham Women's Hospital, Birmingham, Birmingham, Royaume-Uni
14. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France
15. Service de Pédiatrie, Hôpital de la Tour, Meyrin, Suisse
16. Pediatric Endocrinology unit, Kaplan Medical Center, Rehovot, Israel

**Auteur correspondant :** Legendre Marie (marie.legendre@trs.aphp.fr)

*GLI2* est un facteur de transcription à doigts de zinc impliqué dans la régulation de la voie de signalisation Sonic Hedgehog, et exprimé précocement lors du développement du cerveau antérieur et de l'hypophyse. Les mutations du gène *GLI2* sont responsables d'holoprosencéphalies dominantes d'expressivité variable. A ce jour, seulement 7 mutations non ambiguës du gène *GLI2* ont été décrites chez des patients présentant un déficit antéhypophysaire – majoritairement des déficits multiples en hormones antéhypophysaires (CPHD) – parfois associé à une holoprosencéphalie mineure et/ou une polydactylie.

Les objectifs de ce travail étaient : i) d'étudier la prévalence des mutations de *GLI2* chez 158 patients présentant un CPHD, un déficit isolé en hormone de croissance (IGHD) ou un diabète insipide, associés à une histoire personnelle ou familiale d'anomalies de la ligne médiane et/ou une polydactylie/syndactylie et ii) de compléter la description du phénotype associé aux mutations du gène *GLI2*.

Tous les exons codants de *GLI2* ont été séquencés chez 158 individus indépendants.

Treize nouvelles variations hétérozygotes ont été identifiées chez 13 familles indépendantes (15 patients). Cinq sont clairement délétères : p.Arg264\*, p.Gly198Argfs\*153, p.His959Profs\*72, p.\*1587Tyrex\*46 et un faux-sens concernant un doigt de zinc (p.Tyr435Cys). Quatre sont probablement délétères (p.Ser831del, p.Pro63Leu, p.Ser941Arg et p.Arg1382His) : elles entraînent un changement de charge et/ou d'encombrement stérique et concernent des résidus invariants au cours de l'évolution localisés dans des domaines fonctionnels. Pour 4 autres variations faux-sens (p.Ala117Thr, p.Arg720His, p.Ala1077Val et p.Asp1435Glu), des études fonctionnelles sont nécessaires pour confirmer leur pathogénicité.

Les 11 patients porteurs d'une mutation clairement ou probablement délétère présentent un IGHD (n=7), un CPHD (n=3) ou un diabète insipide (n=1). Certains de ces patients présentaient également : une

fente labio-palatine bilatérale (n=2), une atrésie/hypoplasie des choanes (n=2), une agénésie du septum pellucidum (n=1), une anomalie du corps calleux (n=2), une polydactylie (n=2) et une syndactylie 2-3 au niveau des pieds (n=2).

Parmi les 12 sujets porteurs d'une mutation clairement délétère (7 cas index et 5 de leurs apparentés), les 7 cas index présentaient un déficit antéhypophysaire avec une anomalie de la ligne médiane et/ou des extrémités, 2 apparentés présentaient une anomalie isolée des extrémités et 3 apparentés étaient asymptomatiques.

Dans cette large cohorte de patients présentant un hypopituitarisme associé à un antécédent personnel ou familial d'anomalie de la ligne médiane et/ou d'anomalie des extrémités, les mutations de *GLI2* sont responsables d'au moins 5% (9/158) des cas indépendants. La plupart des patients porteurs d'une mutation non ambiguë (7/11) présentait un déficit isolé en hormone de croissance.

**Mots-clefs :** déficit hypophysaire, ligne médiane, holoprosencéphalie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D104/#387

### Une nouvelle mutation du *CLCN1* dans un cas de myotonie de Becker chez un Noir Africain porteur de mutations hétéroalleliques faux-sens A novel *CLCN1* mutation in Becker's myotonia in black African with two heteroallelic missense mutations

GG SAGBO (1), JM ALAO (1), D STERNBERG (2), S AZONBAKIN (3), M ADJAGBA (3), A LALEYE (3)

1. Pédiatrie et Génétique Médicale, CNHU HKM, Cotonou BENIN, Togo
2. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles, Paris, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Faculté des Sciences de la Santé, Cotonou BENIN, Togo

**Auteur correspondant :** LALEYE Anatole (laleyec@yahoo.fr)

Myotonia congenita is a rare inherited disorder of the skeletal muscle excitability leading to a delayed relaxation after its contraction. Affected muscles show stiffness and sometimes pains. This affection occurs following mutations in the human muscle voltage-gated chloride channel gene *CLCN1* located on chromosome 7q35. The two major types of myotonia congenita are known as Thomsen's disease and Becker's disease. They are distinguished by the severity of their symptoms and their patterns of inheritance. Myotonia congenita is rarely reported in black people especially in black Africans. We report a finding on a Becker's myotonia case in a black African with a heteroallelic missense mutation showing a novel c. 1025 C > T, in exon 9 of *CLCN1* gene. Mexiletine has been used as symptomatic treatment with good results.

**Mots-clefs :** Myotonia congenita, Becker's disease, *CLCN1* mutations

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D105/#388

### Identification et confirmation moléculaire de l'effet fondateur de la mutation c.-167A>G chez des patients tunisiens atteints de la maladie de pelizaeus merzbacher like disease

Nadège kammoun (1), Ikhlass Hadj Salem (1), Emna Ellouz (2), Nacim Louhichi (1), Abdelaziz Tlili (1), Fatma kammoun (2), Chanez Triki (2), Faiza Fakhfakh (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie  
2. Service de Neurologie Pédiatrique, C.H.U Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** kammoun.nadège (kammounnad@gmail.com)

Les leucodystrophies (LD) est un groupe de maladies neurogénétiques caractérisées par des troubles de démyélinisation du système nerveux central (SNC) et périphérique (SNP). Parmi les formes appartenant à ce groupe, on trouve la maladie de Pelizaeus Merzbacher Like Disease (PMLD). La PMLD est une forme hypomyélinisante de leucodystrophie dont les signes cliniques peuvent se résumer en un développement moteur altéré, un nystagmus, une dysarthrie et spasticité progressive des membres. La PMLD est une maladie de transmission autosomique récessive, causée par des mutations dans le gène GJC2 codant pour la protéine de jonction la connexine 47 (Cx47). La Cx47 appartient à un groupe de protéines de jonction incluant plus que 20 membres. Ils se regroupent en homo ou en hétérodimères en nombre de 6 pour former les connexons qui sont des canaux intercellulaires mettant en relation le cytoplasme de deux cellules voisines afin de permettre l'échange de diverses molécules de petites taille. Les connexines 47 exprimées majoritairement par les oligodendrocytes, cellules myélinisantes du SNC, communiquent exclusivement avec les astrocytes pour assurer la formation et le maintien de la myéline.

Dans cette étude, nous rapportons les résultats génétiques de 5 patients originaires du sud Tunisien atteints de la PMLD. Le séquençage automatique du gène GJC2 montre l'existence d'une mutation à l'état homozygote chez les 5 patients, localisée dans la position c.-167A>G de la région promotrice du gène. Des études fonctionnelles ont montré que cette mutation appartient à un domaine de fixation (Cx47-D) de l'ADN au facteur de transcription Sox10 et que l'expression du gène GJC2 est sous le contrôle de cette liaison Cx47-D-Sox10. Le changement A>G chez ces patients semble abolir l'affinité de la liaison du Sox10 à l'ADN et par conséquent il n'y aura pas d'expression de la protéine Cx47.

Partons du fait que les 5 patients sont originaires du sud tunisiens et qu'ils sont tous porteurs de la même mutation à l'état homozygote, nous avons émis l'hypothèse de l'effet fondateur et de l'ancêtre commun de la mutation c.-167A>G. Nous avons alors procédé au génotypage fluorescent de deux marqueurs microsatellites extragéniques au gène GJC2. L'analyse des haplotypes a montré un profil homozygote commun à tous les patients contenant les deux marqueurs ainsi que la mutation c.-167A>G ce qui est en faveur de l'effet fondateur de la mutation décrite. La confirmation de cet effet fondateur constitue un avantage dans notre population pour le dépistage de cette maladie dans le cadre du diagnostic prénatal et du conseil génétique.

**Mots-clefs :** leucodystrophie, PMLD et la mutation c.-167A>G, effet fondateur

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D106/#395

### Nouvelle mutation dans le gène SLC9A6 chez un patient présentant un syndrome de Christianson : description d'un cas clinique et revue de la littérature.

Stéphanie Moortgat (1), Marie Deprez (2), Christine Verellen-Dumoulin (1), Lydie Burglen (3), Isabelle Maystadt (1)

1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Charleroi (Gosselies), Belgique  
2. Département de Neuro-pédiatrie, Clinique Sainte-Elisabeth, Namur, Belgique  
3. Service de Génétique Médicale et Centre de Référence des malformations et maladies congénitales du cervelet, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France

**Auteur correspondant :** Moortgat Stéphanie (stephanie.moortgat@ipg.be)

Le syndrome de Christianson (CS, OMIM 300243) est un syndrome rare de déficience intellectuelle liée à l'X pour lequel le gène SLC9A6 a été identifié en 2008. Ce syndrome est caractérisé par une déficience intellectuelle sévère à profonde, une microcéphalie, une régression du développement psychomoteur, de l'épilepsie d'apparition précoce, une ophtalmoplégie, et de l'ataxie avec atrophie cérébelleuse. Certains patients présentent un phénotype mimant le syndrome d'Angelman ou le syndrome de Pitt-Hopkins. Les femmes conductrices peuvent être légèrement symptomatiques. A notre connaissance, 30 patients issus de 12 familles sont rapportés à ce jour dans la littérature. Nous décrivons ici le cas d'un patient avec une nouvelle mutation SLC9A6 (c.1631C>G ou p.Ser544\*) présentant un phénotype typique du CS, avec en outre une rétinite pigmentaire mais sans anomalie cérébelleuse à l'imagerie cérébrale et sans régression psychomotrice à l'âge de 10 ans. Ce jeune garçon aux antécédents familiaux sans particularité, est né au terme d'une grossesse normale, avec des paramètres statur pondéraux et un périmètre crânien au P50 à la naissance. Il a présenté progressivement un retard global de développement psychomoteur et une microcéphalie. A 18 mois sont apparus des stéréotypies manuelles et de l'épilepsie. A l'heure actuelle, son tableau clinique est dominé par une déficience intellectuelle profonde, un comportement autistique, un hyperkinétisme et des troubles du sommeil. A l'examen clinique, on note une microcéphalie et une dysmorphie faciale caractérisée par un visage allongé, des sourcils épars au niveau du 1/3 externe, un nez et un philtrum courts, une macrognathie avec une lèvre inférieure charnue, de grandes oreilles bien ourlées et bien implantées, ainsi qu'une hyperlaxité ligamentaire. Au niveau ophtalmologique, il présente un strabisme convergent mais également une rétinopathie confirmée à l'électrorétinogramme. L'IRM cérébrale contrôlée à deux reprises est normale. L'étude du gène SLC9A6 a mis en évidence à l'état hémizygotique la présence d'une substitution d'une cytosine par une guanine dans l'exon 13 du gène (c.1631C>G), entraînant l'apparition prématurée d'un codon stop (p.Ser544\*). La mère de notre patient ne présente pas de biais d'inactivation du chromosome X au niveau sanguin et la recherche de la mutation est en cours chez elle. Nous discutons des résultats moléculaires, du phénotype de notre patient et le comparons par rapport aux données de littérature.

**Mots-clefs :** Syndrome de Christianson, SLC9A6, Déficience intellectuelle liée à l'X, épilepsie, rétinite pigmentaire



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D107/#397

### Utilisation du NGS dans l'étude des patients avec albinisme oculocutané

Fanny Morice-Picard (1), Eulalie Lasseaux (2), Caroline Rooryck (3), Claudio Plaisant (2), Dorothee Cailley (2), Julie Bouron (2), Patricia Fergelot (4), Didier Lacombe (3), Benoît Arveiler (4)

1. Service de Génétique Médicale, Laboratoire MRGM EA4576, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, 33000, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Génétique Médicale, Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme EA4576, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme EA4576, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Morice-Picard Fanny (fanny.morice@free.fr)

L'albinisme oculocutané (AOC) est une maladie autosomique récessive atteignant 1/17000 personne et comportant une atteinte ophtalmologique avec nystagmus, hypopigmentation rétinienne, hypoplasie fovéale et baisse de l'acuité visuelle; l'hypopigmentation cutanéophanéarienne est d'intensité variable. Quatre gènes (TYR, OCA2, TYRP1, SLC45A2) impliqués dans les OCA de type 1 à 4 sont connus depuis plusieurs années. Récemment un nouveau locus en 4q25 a été associé à l'AOC5, et deux nouveaux gènes, SLC24A5 (OCA6) et C10ORF11(OCA7) ont été découverts (Montoliu et al, 2013 ; Morice-Picard et al, 2013a). Un gène d'albinisme oculaire (GPR143, OA1) et plusieurs gènes responsables de formes syndromiques d'albinisme sont aussi connus (Hermansky Pudlak, Waardenburg, Chediak-Higashi, ...). Nous avons étudié les six gènes d'OCA, plus OA1 et HPS1 (Hermansky Pudlak type 1) chez 400 patients d'origines diverses (Europe, Afrique, Moyen Orient, Extrême Orient, Amérique du Sud) et montré que 36 % sont OCA1, 25% OCA2, 2 % OCA3, 11% OCA4, 1.25% OCA6, 0% OCA7, 6% OA1 et 1% HPS1. Les délétions, recherchées par CGH-array haute résolution ciblée sur ces 6 gènes, représentent 5.6% des anomalies. Nous avons notamment caractérisé un réarrangement complexe d'OCA2 chez deux patients. Par séquençage paired-end du génome entier nous avons montré que ce réarrangement impliquait une délétion d'un fragment comportant les exons 2 à 19 d'OCA2, suivie de la réinsertion, après remaniement, de la majeure partie du fragment délété dans l'exon 1 du gène (Morice-Picard et al, 2013b). 17.5% des patients restent sans diagnostic moléculaire. Une première hypothèse est que des mutations restent non détectées car situées dans les régions inexplorées des gènes (introns, éléments régulateurs). Pour cela avons séquencé l'intégralité des gènes OCA1-4 chez 16 patients. La seconde hypothèse est que d'autres gènes restent à identifier. Nous avons séquencé l'exome de 11 patients; l'analyse des données est en cours. Enfin, avec l'arrivée du NGS comme outil de diagnostic, nous avons mis en place un panel incluant les 6 gènes d'AOC, le gène OA1, et 19 gènes d'albinisme syndromique. L'utilisation d'un premier panel avec 6 gènes se montre extrêmement efficace en termes de détection des mutations et de rapidité, ce qui permet de réduire à quelques semaines le délai pour rendre le résultat. L'utilisation du panel complet sera encore plus efficace car permettra de diagnostiquer des formes syndromiques restées jusque-là infra-cliniques, comme cela a été avéré pour plusieurs cas de syndrome d'Hermansky-Pudlak par exemple. L'analyse exhaustive des gènes d'albinisme permettra de mieux cerner les interactions entre gènes dans cette pathologie qui semble de plus en plus défier les critères du simple monogénisme.

Montoliu et al, 2013 Pigm Cell Melan Res doi: 10.1111/pcmr.1216

Morice-Picard et al, 2013a . J Inv Derm doi: 10.1038/jid.2013.360

Morice-Picard et al, 2013b Pigm Cell Melan Res doi: 10.1111/pcmr.12173

**Mots-clés :** Albinisme oculocutané, Séquençage Nouvelle-Génération, Gène candidat

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D108/#399

### Implication de HYDIN dans les dyskinésies ciliaires primitives : pièges du séquençage haut-débit

Esther Kott (1), Philippe Duquesnoy (1), Bruno Copin (2), Raphaël Chiron (3), Florence Dastot - Le Moal (4), Guy Montantin (4), Nathalie Collot (4), Ludovic Jeanson (1), Estelle Escudier (2), Marie Legendre (2), Serge Amselem (2)

1. INSERM UMR\_S933 / UPMC, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. INSERM UMR\_S933 / UPMC et U.F. de Génétique Moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Département de Pneumologie et Addictologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire, Montpellier, France
4. U.F. de Génétique Moléculaire, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France

**Auteur correspondant :** Amselem Serge (serge.amselem@inserm.fr)

Les dyskinésies ciliaires primitives (DCP) sont des maladies respiratoires rares, transmises selon un mode autosomique récessif, et qui résultent de défauts de la fonction et/ou de la structure des cils mobiles. De nombreux phénotypes ultrastructuraux ont été décrits, notamment des anomalies du complexe central, qui touchent ~15% des patients. Le complexe central correspond aux deux microtubules centraux entourés par la gaine centrale, qui est formée de onze projections protéiques. Afin d'identifier de nouveaux défauts moléculaires impliqués dans ce phénotype particulier de DCP, nous avons combiné les approches de cartographie par homozygotie et de séquençage d'exome chez un patient consanguin présentant un tableau clinique typique de DCP et une anomalie subtile de l'ultrastructure ciliaire (i.e. anomalies de la gaine du complexe central présentes sur 32% des cils). 3953 variations de séquence localisées dans les régions d'homozygotie de ce patient ont été identifiées. Ces variations comprenaient la délétion homozygote d'un nucléotide décalant le cadre de lecture (c.11709delT) au sein de l'exon 69 du gène HYDIN, qui vient d'être impliqué dans les DCP (Olbrich et al., Am. J. Hum. Genet. 2013). Bien que déjà décrite comme un polymorphisme dans les bases de données, nous avons porté une attention particulière à cette variation, car elle était présente à l'état apparemment hétérozygote chez tous les contrôles analysés (individus dont l'exome a été séquencé en même temps que le patient et présentant une affection différente). L'existence d'un pseudogène (HYDIN2) 99% identique à HYDIN nous a conduits à analyser les variations de HYDIN dont la fréquence était égale à 0,5 : au moins un tiers des « polymorphismes » annotés dans les bases de données (y compris la variation identifiée c.11709delT) ne sont pas de réels polymorphismes, mais représentent des différences entre les séquences de HYDIN et HYDIN2. L'homozygotie apparente de certains de ces « pseudo-polymorphismes » chez le patient a révélé une délétion intragénique homozygote emportant les exons 68 à 71 de HYDIN (c.11469-750\_12126+181del4046bp). L'analyse des transcrits de HYDIN obtenus à partir des cellules épithéliales des voies aériennes supérieures du patient a permis de montrer que cette délétion, présente au niveau de l'ADNc HYDIN, entraînait un décalage du cadre de lecture et conduisait à un codon stop prématuré (p.Phe3824Serfs\*20). Cette étude, qui illustre l'importance d'une analyse prudente des variations identifiées par séquençage d'exome, confirme le rôle de HYDIN dans la physiopathologie des DCP, et décrit la première mise en évidence par le séquençage de l'exome d'une délétion emportant plusieurs exons.

**Mots-clés :** dyskinésie ciliaire primitive, HYDIN, exome

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D109/#406

### Des mutations pertes de fonction de RSPH1 sont responsables de dyskinesies ciliaires primitives associées à des anomalies du complexe central et des ponts radiaires

Esther Kott (1), Marie Legendre (2), Bruno Copin (2), Jean-François Papon (3), Florence Dastot - Le Moal (4), Guy Montantin (4), Philippe Duquesnoy (1), William Piterboth (4), Daniel Amram (5), Laurence Bassinet (6), Julie Beucher (7), Nicole Beydon (8), Eric Deneuveille (7), Véronique Houdouin (9), Hubert Journel (10), Jocelyne Just (11), Nadia Nathan (12), Aline Tamalet (12), Nathalie Collot (4), Ludovic Jeanson (1), Morgane Le Gouez (1), Benoit Vallette (1), Anne-Marie Vojtek (13), Ralph Épaud (14), André Coste (15), Annick Clement (12), Bruno Housset (6), Bruno Louis (16), Estelle Escudier (2), Serge Amselem (2)

1. INSERM UMR\_S933 / UPMC, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. INSERM UMR\_S933 / UPMC et U.F. de Génétique Moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. INSERM UMR\_S955 et Service d'ORL et chirurgie cervico-faciale, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
4. U.F. de Génétique Moléculaire, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
5. U.F. de Génétique Clinique, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
6. Service de Pneumologie, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
7. Service de Pneumologie Pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire Hôpital Sud, Rennes, France
8. Service d'explorations fonctionnelles respiratoires, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
9. Service de Pneumologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France
10. Service de Génétique Médicale et Oncogénétique, Centre Hospitalier Bretagne Atlantique, Vannes, France
11. Centre de l'Asthme et des Allergies, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
12. Unité de pneumologie pédiatrique, Centre National de Référence des Maladies Respiratoires Rares, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
13. Service d'anatomo-pathologie (laboratoire de microscopie électronique), Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
14. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
15. Service d'ORL et de chirurgie cervico-faciale, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
16. INSERM U955, CNRS ERL7240, Créteil, France

**Auteur correspondant** : Amselem Serge (serge.amselem@inserm.fr)

Les dyskinesies ciliaires primitives (DCP) sont des maladies respiratoires rares, transmises selon un mode autosomique récessif, et qui résultent de défauts de la fonction et/ou de la structure des cils mobiles. De nombreux phénotypes ultrastructuraux ont été décrits, concernant le plus souvent les bras de dynéine et plus rarement le complexe central, formé des microtubules centraux entourés par la gaine centrale, qui touchent ~15% des patients. Si des mutations de trois gènes (RSPH4A, RSPH9, HYDIN) ont été associées aux DCP avec anomalies du complexe central, elles n'expliquent la pathologie que chez un quart des patients. Afin d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans ce phénotype de DCP, dont le diagnostic peut être particulièrement difficile à établir (absence de situs inversus, persistance d'un battement ciliaire, anomalies ultrastructurales retrouvées sur une minorité des cils), nous avons combiné une cartographie par homozygotie à un séquençage d'exome chez un individu consanguin présentant ce phénotype. Nous avons ainsi identifié une mutation non-sens dans RSPH1, un gène dont l'orthologue chez *Chlamydomonas reinhardtii*, RSP1, code une protéine de la tête du pont radiaire. RSPH1 est principalement exprimé au niveau testiculaire et respiratoire. Le criblage moléculaire de RSPH1 chez 48 familles indépendantes de notre cohorte présentant des anomalies du complexe central a secondairement permis d'identifier sept mutations bi-alléliques chez 10 familles. Quatre de ces mutations (c.275-2A>C, c.366-3C>A, c.366G>A, c.727+5G>A) entraînent des défauts d'épissage, qui ont été démontrés par l'étude

des transcrits de RSPH1 obtenus à partir de cellules épithéliales des voies aériennes des patients. La protéine RSPH1, localisée dans les cils de cellules ciliées contrôles, n'est pas détectable dans les cellules d'une patiente porteuse de mutations perte de fonction de RSPH1. La protéine RSPH4A, un autre constituant de la tête du pont radiaire normalement localisé sur toute la longueur des cils, n'est pas détectable à l'extrémité distale des cils de cette patiente. L'analyse par vidéomicroscopie numérique à haute vitesse a mis en évidence chez chaque individu la coexistence de différents types de battement ciliaire, avec des cils dont la fréquence de battement est normale mais dont le mouvement est anormal, et d'autres cils immobiles ou avec une fréquence de battement ralentie. En conclusion, notre étude montre que RSPH1 est muté chez 20,8% (10/48) des patients atteints de DCP avec des anomalies du complexe central, dont le diagnostic peut à présent être amélioré par le criblage moléculaire. Les mutations de RSPH1 apparaissent donc comme une étiologie majeure pour ce phénotype de DCP, pour lequel il existe des anomalies du complexe central et des défauts des ponts radiaires. Cette étude démontre ainsi l'importance de RSPH1 dans l'assemblage correct du complexe central et des ponts radiaires chez l'homme.

**Mots-clés** : dyskinesie ciliaire primitive, RSPH1, exome

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D110/#407

### Les mutations d'une enzyme du cycle de Krebs, l'aconitase 2 (ACO2), sont responsables de neuropathie optique isolée ou de neuropathie optique syndromique avec encéphalopathie et atrophie cérébelleuse.

Claude BESMOND (1), Nathalie BODDAERT (1), Dominique CHRETIEN (1), Isabelle DESGUERRE (1), Sylvie GERBER (1), Laurence HUBERT (1), Anna KAMINSKA (1), Josseline KAPLAN (1), Metodi METODIEV (1), Arnold MUNNICH (1), Marlène RIO (1), Agnès ROTIG (1), Jean-Michel ROZET (1)  
1. Département de Génétique et INSERM U781, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** ROZET Jean-Michel (jean-michel.rozet@inserm.fr)

Les gènes responsables de neuropathie optique héréditaire identifiés à ce jour codent des protéines impliquées dans la dynamique du réseau mitochondrial, des enzymes de la chaîne respiratoire et des protéines mitochondriales de fonction mal connue. D'autre part, les enzymopathies du cycle de Krebs, ou cycle des acides tricarboxyliques (CAT), sont responsables d'encéphalopathies sévères et de rétinopathies pigmentaires isolées; Jusqu'à ce jour aucun cas de neuropathie optique isolée n'avait été attribué à un déficit du CAT. Ici, nous rapportons l'étude d'une série de cinq patients atteints d'atrophie optique isolée (n = 1) ou syndromique (n= 4) ayant permis l'identification de mutations bi-alléliques faux-sens ou tronquantes dans le gène codant l'aconitase mitochondriale (ACO2), une enzyme du CAT, catalysant l'interconversion du citrate en isocitrate. Des études rétrospectives réalisées sur les fibroblastes de ces patients ont révélé divers degrés de déficit en ACO2 (activité résiduelle de 5% à 30%), en rapport avec la sévérité de l'atteinte clinique. Cette observation démontre que les mutations récessives autosomiques de l'ACO2 sont responsables de neuropathie optique isolée ou syndromique. En outre, les résultats de cette étude étayaient l'hypothèse d'un dysfonctionnement mitochondrial comme dénominateur commun des affections avec atteinte du nerf optique et celle, récente, d'une corrélation entre la sévérité du déficit énergétique et le degré de l'atteinte extraoculaire.

**Mots-clés :** Neuropathies optiques isolées et syndromiques, Cycle de Kerbs, ACO2, Corrélations génotype-phénotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D111/#409

### Identification d'un remaniement impliquant GPR143 et SHROOM2 chez un patient présentant un tableau d'albinisme oculocutané

Fanny Morice-Picard (1), Eulalie Lasseaux (2), Claudio Plaisant (2), Dorothée Cailley (2), Julie Bouron (2), Caroline Rooryck (3), Didier Lacombe (3), Valérie Pelletier (4), Dan Lipsker (5), Yaumara Perdomo-Trujillo (4), Hélène Dollfus (6), Benoît Arveiler (7)

1. Service de Génétique Médicale, Laboratoire MRGM EA4576, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, 33000, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Génétique Médicale, Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme EA4576, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service de Génétique Médicale CARGO, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service de Dermatologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Service de Génétique Médicale CARGO, CHU de Strasbourg, Bordeaux, France
7. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme EA4576, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Morice-Picard Fanny (fanny.morice@free.fr)

L'albinisme oculaire de type 1 lié à l'X (OA1) est caractérisé par une atteinte ophtalmologique incluant une baisse d'acuité visuelle avec photophobie, nystagmus, hypopigmentation rétinienne, hypoplasie fovéale et anomalie de décussation des voies optiques. Il n'y a classiquement pas d'hypopigmentation cutané-phanérienne. Le gène impliqué GPR143 (Xq22) code une protéine membranaire mélanosomale. Le diagnostic moléculaire est fait par séquençage du gène et recherche de réarrangements par CGH-array haute résolution dédiée aux gènes d'albinisme oculocutané et au gène d'albinisme oculaire. Nous avons analysé, avec cette technique, un patient présentant un albinisme oculaire associé à une hypopigmentation cutané-phanérienne marquée par rapport au phototype familial.

Ce patient présente depuis la naissance une absence de fixation du regard. A l'âge d'un mois est apparu un nystagmus rapide et horizontal qui a disparu à un an. Il n'y a pas de photophobie franche. L'étude de la réfraction est en faveur d'une hypermétropie forte. L'examen du segment antérieur de l'œil met en évidence un certain degré d'hypotrophie irienne avec une transillumination discrète et la présence d'un embryotoxon postérieur bilatéral. L'examen du fond d'œil montre un aspect très peu pigmenté de l'ensemble de la rétine. L'examen pratiqué chez la mère et la sœur du patient montrait une discrète hétérogénéité de l'épithélium pigmentaire en périphérie. Ce tableau clinique fait suspecter un albinisme oculaire lié à l'X, malgré un certain degré d'hypopigmentation cutanéophanérianne (peau claire, cheveux blonds) contrastant avec le phototype des parents et de la fratrie.

Le patient présente une délétion d'une taille minimale de 78.8kb (chrX:9713310- 9792147) incluant les exons 1 à 5 de GPR143 et le premier exon de SHROOM2. La protéine codée par GPR143 est un récepteur de la L-DOPA impliqué dans le développement rétinien. Chez les patients OA1 le défaut de signal médié par GPR143 est principalement responsable de l'anomalie ophtalmologique. Le gène SHROOM2 code une protéine de la famille Shroom, impliquée dans le contrôle du cytosquelette d'actine. Le rôle de SHROOM2 a été montré dans la biogenèse du mélanosome et dans la localisation de la mélanine dans les cellules de l'épithélium pigmentaire rétinien notamment. La délétion de SHROOM2 pourrait moduler le phénotype pigmentaire du patient. Par ailleurs l'hypotrophie irienne n'est pas un signe typique et pourrait être relié à la perte de fonction de SHROOM2. Chez ce patient, l'albinisme oculaire semble lié à la délétion de GPR143 et la dépigmentation cutané-phanérienne à l'absence de SHROOM2, avec la possibilité d'un effet synergique de cette double perte de fonction. Le gène SHROOM2 n'a jamais été

impliqué dans des pathologies chez l'homme et des études fonctionnelles complémentaires seraient intéressantes afin de mettre en évidence son rôle dans le défaut de pigmentation.

**Mots-clés :** Albinisme oculaire, SHROOM2, pigmentation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D112/#411

### Un nouveau gène responsable de surdité profonde isolée transmise sur le mode autosomique récessif (DFNB) chez l'homme

Samia Abdi (1), Asma Belhouli (2), Crystel Bonnet (3), AICHA Bouaita (3), Ali Cheknane (4), JEAN-PIERRE Hardelin (5), H Lebdi (6), Andréa Lelli (5), M Makhrelouf (7), Christine Petit (8), Yahia Rous (9), A Zenati (7), K Boudjelida (10), Malek Louha (11)

1. Génétique et Biologie, Centre Hospitalier universitaire de Blida, Université Saad Dahleb, Blida, Algérie
2. Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari, Boumediène, Alger, Algérie
3. INSERM UMRS1120, UPMC, Institut de la Vision, PARIS, France
4. ORL, Centre Hospitalier universitaire de Blida, Blida, Algérie
5. Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, INSERM UMRS1120, Institut Pasteur, PARIS, France
6. ORL, Centre Hospitalier Universitaire de Blida, Blida, Algérie
7. Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène, Alger, Algérie
8. Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, INSERM UMRS 1120, Institut de la Vision, UPMC, Institut Pasteur, Collège de France, PARIS, France
9. ORL, Centre Hospitalier universitaire de Blida, BLIDA, Algérie
10. Ophtalmologie, CHU Blida, Blida, Algérie
11. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Trousseau, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France

**Auteur correspondant :** Bonnet Crystel (crystel.bonnet@inserm.fr)

Nous rapportons une mutation non-sens homozygote dans un nouveau gène chez deux patients algériens issus d'une famille consanguine qui présentent une surdité profonde isolée sans autre signe clinique. Dans une large cohorte de familles consanguines algériennes (une centaine de familles) comportant au moins deux enfants atteints, nous avons recherché dans un premier temps des mutations dans les gènes les plus fréquemment impliqués dans des surdités profondes isolées (GJB2, OTOF, Myosine XVa....). En l'absence de mutations décelées, nous avons procédé à l'analyse de l'exome total pour quelques familles. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence une mutation non-sens homozygote chez un frère et une sœur sourds mais absente chez les trois autres membres de la fratrie qui entendent normalement. Cette mutation n'a pas été retrouvée dans les autres familles algériennes examinées.

**Mots-clés :** surdité profonde, autosomique récessif, exome sequencing

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D113/#414

### Manifestations hématologique et rénale atypiques dans la Neurofibromatose de type I : coïncidence ou lien physiopathologique ?

Julien Van-Gils (1), Jérôme Harambat (2), Charlotte Jubert (3), Dominique Vidaud (4), Didier Lacombe (5), Cyril Goizet (6)

1. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. CHU Bordeaux, Centre de référence maladies rénales rares du Sud-Ouest (SORARE), CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Oncologie pédiatrique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service de biochimie, APHP Beaujon, Clichy, France
5. service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Van-Gils Julien (julien.vangils@gmail.com)

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est la plus fréquente des phacomatoses, de transmission autosomique dominante avec 50% des cas d'apparition sporadique.

Le diagnostic de cette maladie est clinique reposant sur des critères diagnostiques précis : taches café au lait, neurofibromes, lentigines des plis cutanés, nodules de Lisch, gliome des voies optiques ou encore lésion osseuse spécifique (pseudarthrose, amincissement de la corticale des os longs, dysplasie des ailes du sphénoïde).

Le gène responsable de la maladie, NF1, est localisé en 17q11.2 et code pour la neurofibromine, impliquée dans la régulation de nombreux processus intracellulaires et très exprimée au niveau du système nerveux central. Elle agit comme un suppresseur de tumeur.

Nous rapportons ici une nouvelle famille de NF1 dans laquelle, en plus des critères diagnostiques classiques, sont survenus deux événements médicaux majeurs atypiques. Trois apparentés, un père et deux de ses trois fils sont décrits.

Le diagnostic clinique a été porté, simultanément chez chacun des cas, devant de nombreuses taches café-au-lait sur l'ensemble du corps associées à quelques lentigines axillaires ainsi que sur l'atteinte d'un parent du premier degré.

Le cadet de la fratrie a présenté une leucémie aigue myéloïde (LAM) de type 2 à l'âge de 10 ans diagnostiquée devant la découverte d'une bicytopenie sur un bilan réalisé à l'occasion d'infections à répétition évoluant depuis 2-3 ans associée à une pâleur et une asthénie. Il est actuellement à 4,5 ans post greffe en première rémission complète.

Le benjamin a développé, quant à lui, un syndrome néphrotique cortico-dépendant à l'âge de 4 ans avec anasarque, céphalées et asthénie. Il est actuellement stabilisé sous mycophénolate mofétil 600mg x2 par jour et prednisone 5mg 1 jour sur 2.

L'analyse moléculaire a permis d'identifier la mutation faux-sens c.3442C>A / p.Ala1148Glu dans l'exon 20 du gène NF1 ségrégant à l'état hétérozygote chez les trois cas.

Quelques cas de LAM associées à la NF1 ont déjà été décrits et dix cas de glomérulopathies chez des patients NF1 ont été recensés. Cependant ces associations sont très rares.

Par ailleurs il s'agit, à notre connaissance, du premier cas décrit d'association entre NF1 et syndrome néphrotique chez un enfant ainsi que de la première famille où ségrége deux manifestations atypiques en association avec la NF1.

Cela nous suggère de rester attentif sur la possibilité de survenue de ces rares manifestations dans l'évolution de la maladie et d'adapter éventuellement les critères de surveillance en proposant une NFS-plaquettes annuelle dès l'enfance et en gardant à l'esprit la possibilité d'une glomérulopathie avec mesure de la tension artérielle et recherche de protéinurie à la bandelette urinaire à chaque consultation.

**Mots-clés :** Neurofibromatose de type 1, Leucémie aigue myeloïde, Syndrome néphrotique



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D114/#417

### Surdité profonde isolée, sans trouble vestibulaire, sans atteinte rétinienne dans des familles porteuses d'une mutation n'affectant qu'une des isoformes de la protocadherine15, codée par le gène PCDH15 responsable du Syndrome de Usher de type 1.

Samia Abdi (1), Asma Belhouli (2), Crystel Bonnet (3), AICHA Bouaita (3), Anne Dieux (4), Isabelle Drumare-Bouvet (5), Souad Gherbi (6), JEAN-PIERRE Hardelin (7), Muriel Holder (4), Maria Iribarne (8), M Makhrelouf (9), Sandrine Marlin (6), Elise Peppermans (8), Christine Petit (10), Yahia Rous (11), Luce Smagghé (12), A Zenati (9), K Boudjelida (13)

1. Génétique et Biologie, Centre Hospitalier universitaire de Blida, Université Saad Dahleb, Blida, Algérie
2. Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari, Boumediène, Alger, Algérie
3. INSERM UMRS1120, UPMC, Institut de la Vision, PARIS, France
4. Génétique clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France
5. explorations fonctionnelles de la vision, Hôpital Roger-Salengro, CHRU, Lille, France
6. Centre de référence des Surdités Génétiques, Service de Génétique, Hôpital Necker, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France
7. Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, INSERM UMRS1120, Institut Pasteur, PARIS, France
8. Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, Institut Pasteur, Paris, France
9. Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène, Alger, Algérie
10. Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, INSERM UMRS 1120, Institut de la Vision, UPMC, Institut Pasteur, Collège de France, PARIS, France
11. ORL, Centre Hospitalier universitaire de Blida, BLIDA, Algérie
12. INSERM UMRS1120, UPMC, Institut de la Vision, Paris, France
13. Ophtalmologie, CHU Blida, Blida, Algérie

**Auteur correspondant :** Bonnet Crystel (crystel.bonnet@inserm.fr)

Des mutations rapportées dans le gène PCDH15, qui code la protocadherine 15, sont responsables soit d'une surdité profonde isolée soit d'un syndrome de Usher de type 1 qui se caractérise par une surdité congénitale profonde, des troubles vestibulaires et une rétinopathie pigmentaire. Trois isoformes ont été rapportées pour la protocadherine 15, qui diffèrent par leur domaine cytoplasmique. Nous avons identifié une mutation spécifique d'une des isoformes de la protocadherine15 chez 3 patients issus de deux familles distinctes, qui présentent une surdité profonde isolée sans trouble vestibulaire et rétinopathie pigmentaire associés. Le patient de la première famille porte la mutation à l'état homozygote tandis que les deux patients de la seconde famille sont hétérozygotes composites pour cette mutation et sont porteurs d'une mutation non sens sur l'autre allèle. Ce résultat éclaire le rôle des différentes isoformes de PCDH15 dans les trois types de cellules sensorielles: auditives, vestibulaires et photoréceptrices.

**Mots-clefs :** Isoforme, PCDH15, surdité isolée

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D115/#422

### Contribution des mutations du gène LHX4 aux déficits antéhypophysaires de 400 patients

Enzo Cohen (1), Nathalie Collot (2), Sophie Rose (2), Florence Dastot (2), Philippe Duquesnoy (1), Bruno Copin (3), Marie-Pierre Vie-Luton (3), Anne-Marie Bertrand (4), Frédéric Brioude (5), Latifa Hilal (6), Juliane Leger (7), Mohamad Maghnie (8), Isabelle Oliver-Petit (9), Michel Polak (10), Maité Tauber (9), Philippe Touraine (11), Marie-Laure Sobrier (1), Serge Amselem (3), Marie Legendre (3)

1. Inserm UMR\_S933 / UPMC, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
3. Inserm UMR\_S933 / UPMC et U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Service de Pédiatrie Endocrinologie, CHU de Besançon, Besançon, France
5. Explorations fonctionnelles endocriniennes, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
6. Laboratoire de Biologie générale, Faculté des Sciences, Rabat, Maroc
7. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France
8. Pediatrics, IRCCS G. Gaslini, University of Genoa, Genoa, Italie
9. Service d'Endocrinologie et Génétique, Hôpital des Enfants, CHU de Toulouse, Toulouse, France
10. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France
11. Service d'Endocrinologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France

**Auteur correspondant :** Legendre Marie (marie.legendre@trs.aphp.fr)

Les mutations du gène LHX4 sont responsables de déficits antéhypophysaires de transmission dominante avec pénétrance incomplète et expressivité variable. A ce jour, seules 11 mutations non ambiguës de ce facteur de transcription, à domaines LIM et à homéodomaine, ont été impliquées dans des déficits antéhypophysaires. Parmi les 11 cas indépendants décrits, 9 présentaient une post-hypophyse ectopique et 6 présentaient une anomalie de la selle turcique.

Les objectifs de cette étude sont de : i) déterminer la prévalence des mutations de LHX4 dans une large cohorte de patients (n=400) ayant un déficit antéhypophysaire éventuellement associé à une post-hypophyse ectopique et/ou une anomalie de la selle turcique, ii) décrire plus précisément le phénotype associé aux mutations de LHX4, et iii) caractériser le retentissement fonctionnel des variations identifiées.

Le gène LHX4 a été analysé par séquençage Sanger dans un groupe de 400 patients indépendants. Les variants faux-sens identifiés ont été évalués in vitro pour : i) leur capacité à transactiver le promoteur proximal de POU1F1, ii) leur localisation subcellulaire et iii) leur interaction avec 3 partenaires protéiques (IFT172, ISL2 et LDB1).

En plus de la mutation c.538-1G>C précédemment décrite, nous avons identifié 8 nouvelles mutations à l'état hétérozygote : 1 non-sens (p.Tyr131\*), 1 décalant le cadre de lecture (p.Arg48Tyrfs\*104), 1 mutation altérant l'épissage (c.606+1G>T, de novo) et 5 variations faux-sens (p.Arg65Val et p.Arg71Lys dans le domaine LIM1 d'interaction protéique ; p.Thr163Pro, p.Arg221Gln et p.Arg235Gln au niveau de l'homéodomaine). Parmi les 9 cas index indépendants, 1 seul présentait une imagerie de la région hypophysaire normale, 2 présentaient une hypoplasie de l'antéhypophyse isolée, 3 présentaient une post-hypophyse ectopique et 3 présentaient une anomalie de la selle turcique avec post-hypophyse ectopique. Le cas index porteur de la variation p.Arg235Gln présentait une déhiscence du sphénoïde.

La mesure de l'activité transcriptionnelle a montré une perte totale de fonction pour la variation p.Arg235Gln et une perte partielle pour les variants du domaine LIM1 et la variation p.Arg221Gln. Le variant p.Arg235Gln présente une localisation à la fois nucléaire et cytoplasmique à la différence de la protéine sauvage exclusivement nucléaire. Une première expérience de co-immunoprécipitation a montré une perte partielle d'interaction entre les 2 variants du domaine LIM1 et ISL2. L'étude fonctionnelle de la variation p.Thr163Pro est en cours.

Ce travail, qui concerne le plus grand nombre de patients étudiés à ce jour pour LHX4, démontre l'implication de ce gène pour au moins 2% (8/400 individus indépendants) des hypopituitarismes. En outre, cette étude, qui souligne l'importance fonctionnelle du domaine LIM1, montre que la localisation de la post-hypophyse et la morphologie de la selle turcique sont très variables chez les patients porteurs d'un défaut moléculaire de ce gène.

**Mots-clefs** : déficit hypophysaire, développement de l'hypophyse, croissance

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D116/#426

### Mutations du gène STK11 chez deux patients Marocains ayant le syndrome de Peutz-Jeghers

Wiam Smaili (1), Siham Chafai Elalaoui (1), Stéphanie Baert-Desurmont (2), Marie-Pierre Buisine (3), Fabienne Escande (3), Thierry Frébourg (2), Maria Mansouri (4), Mariam Tajir (5), Abdelaziz Sefiani (6), Julie Tinat (7), Hicham Zerhouni (8)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpitaux de Rouen, Rouen, France
3. Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire, Centre Hospitalier Régional Universitaire, Lille, France
4. Centre de Génomique Humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Rabat, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Rabat, Maroc
6. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc
7. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpitaux de Rouen, Rouen, France
8. Service des Urgences Chirurgicales Pédiatriques, Hôpital d'enfants Rabat, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant** : Smaili Wiam (wiam.smaili@gmail.com)

Le syndrome de Peutz Jeghers est une maladie génétique rare, de transmission autosomique dominante et dont la prévalence est estimée à 1/50 000. Sur le plan clinique, il se caractérise par une polyposse hamartomateuse du tube digestif qui s'accompagne d'une lentiginose labiale de la muqueuse buccale, des doigts et de la marge anale. Il se caractérise aussi par une prédisposition tumorale, surtout au niveau des ovaires, des testicules, du col utérin et du pancréas.

Le diagnostic du syndrome de Peutz Jeghers repose cliniquement sur l'histoire familiale, la présence de lésions cutanéo muqueuses et de polypes au niveau du tube digestif. Au niveau moléculaire, il est dû à des mutations du gène STK11 situé en 19p13.3, qui code pour une protéine de la famille des sérine-thréonine kinases qui aurait un rôle suppresseur de tumeurs.

Nous rapportons l'observation de deux familles marocaines non consanguines, ayant chacune un enfant présentant cliniquement des rectorragies avec lentiginose labile et à l'endoscopie digestive des polypes dont la biopsie a confirmé le type hamartomateux. L'analyse moléculaire du gène STK11 a montré que le patient de la 1ère famille est hétérozygote pour la mutation c.648\_693del. Pour le 2ème patient, une autre mutation a été identifiée à l'état hétérozygote c.924G>A, p.Trp308X. La présence de ces deux mutations a confirmé le diagnostic du syndrome de Peutz-Jeghers chez les deux patients.

La confirmation du diagnostic du syndrome de Peutz-Jeghers nous a permis de proposer une prise en charge adéquate aux patients et de prodiguer un conseil génétique adéquat aux parents.

**Mots-clefs** : Syndrome de Peutz-Jeghers, autosomique dominant, Gène STK11

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D117/#428

### Un nouveau cas très particulier de syndrome de Sotos avec hépatoblastome et intelligence supérieure

Yvan Herenger (1), Lydie Burglen (2), Bérénice Doray (3), Hélène Dollfus (3), Elisabeth Flori (1), Patrick Lutz (4), Georges Noël (5), François Becmeur (6), Yves Alembik (3)

1. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle et prénatale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
2. Laboratoire de neurogénétique moléculaire, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
3. Service de génétique clinique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
4. Service de pédiatrie, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
5. Radiothérapie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
6. Service de chirurgie pédiatrique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France

**Auteur correspondant** : Herenger Yvan (yvanherenger@yahoo.fr)

Nous rapportons l'observation d'un jeune garçon hospitalisé via les urgences à l'âge de 22 mois pour hépatoblastome mis en évidence lors de l'exploration d'une anémie de découverte fortuite.

Cet enfant présentait une croissance exagérée avec macrosomie et macrocéphalie (poids, taille et PC à +3DS à 22 mois pour un PN de 4220 g, une TN de 54 cm et un PCN à 39 cm), une dysmorphie faciale typique et des troubles du développement moteur ayant fait suspecter un syndrome de Sotos. L'évolution de l'hépatoblastome fut favorable après traitement par radio-embolisation, chimiothérapie, chirurgie et radiothérapie. Un excellent développement cognitif avec un QIT à 134 fut observé par la suite.

Le caryotype conventionnel ne retrouvait pas d'anomalies et la FISH à la recherche d'une délétion 5q35 était normale. L'étude moléculaire du gène NSD1 par séquençage direct retrouva une mutation faux-sens à l'état hétérozygote de survenue de novo, c.6524G>T dans l'exon 23 responsable d'un changement d'acide aminé dans la protéine (p.Cys2175Phe) prédit pathogène.

La survenue d'un hépatoblastome dans les observations de syndrome de Sotos est exceptionnelle avec à ce jour une seule observation décrite dans la littérature, alors que la survenue dans le syndrome de Beckwith-Wiedemann d'un hépatoblastome est fréquemment observée. En faveur d'un overlap clinique et moléculaire dans les syndromes avec avance staturale-pondérale : des anomalies 11p15 classiquement associées au syndrome de Beckwith-Wiedemann sont souvent retrouvées dans les cas de syndrome Sotos-like non mutés dans NSD1, de même que l'inverse est aussi observé. Bien que le retard des acquisitions fasse classiquement partie des critères diagnostiques majeurs du syndrome de Sotos, l'absence de déficience associée aux mutations du gène NSD1 a déjà été observée. Une telle efficacité intellectuelle avec un QIT à 134 constitue cependant un trait clinique atypique.

**Mots-clefs** : Sotos, Hépatoblastome, NSD1

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D118/#430

### Identification par séquençage exomique d'un nouveau gène impliqué dans le syndrome de Bardet-Biedl : le gène BBIP1 (BBS18).

Sophie Scheidecker (1), Christelle Etard (2), NW Pierce (3), Véronique Geoffroy (4), Elise Schaefer (5), Jean Muller (6), Kirsley Chennen (5), Elisabeth Flori (7), Valérie Pelletier (8), Olivier Poch (9), Vincent Marion (5), Corinne Stoetzel (5), Uwe Strähle (2), Maxence Nachury (3), Hélène Dollfus (5)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, STRASBOURG, France
2. Institut für Toxikologie und Genetik Campus Nord, Karlsruher Institut für Technologie, Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, Eggenstein-Leopoldshafen, Allemagne
3. Department of Molecular and Cellular Physiology, Stanford University School of Medicine, Stanford, California, USA
4. Plate-forme Bioinformatique de Strasbourg, IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), CNRS UMR7104, INSERM U964, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Service de Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
9. Integrative Genomics and Bioinformatics Laboratory, IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), CNRS UMR7104, INSERM U964, ICube UMR 7357, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Scheidecker Sophie (sophie.scheidecker@gmail.com)

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) est une ciliopathie emblématique caractérisée par l'association d'une dystrophie rétinienne, d'une polydactylie post-axiale, d'une obésité, d'une atteinte rénale, d'un hypogonadisme et de troubles cognitifs. Il se transmet selon un mode autosomique récessif et est génétiquement très hétérogène puisqu'à ce jour 18 gènes BBS sont identifiés (BBS1 à BBS18).

Les protéines BBS sont localisées au niveau du cil primaire ou du complexe du centrosome et sont impliquées dans la biogenèse et/ou la fonction de ce cil. Huit protéines (BBS1, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS8 et BBIP1) forment un complexe appelé le BBSome et sont impliquées dans le transport ciliaire de protéines cargo. L'assemblage de ce complexe est médié par un second complexe appelé complexe chaperonine qui inclut les protéines BBS6, BBS10 et BBS12. BBS3/ARL6 recrute le BBSome à la membrane et BBS17/LZTFL1 régule l'entrée du BBSome dans le cil.

Des mutations dans les gènes BBS connus sont détectées chez 80% des patients BBS et ainsi, 20% d'entre eux n'ont toujours pas de diagnostic moléculaire à l'heure actuelle. En utilisant l'approche par séquençage d'exome, nous avons identifié une mutation stop à l'état homozygote (NM\_001195306: c.173T> G, p.Leu58\*) dans le gène BBIP1 (BBIP10 – et préalablement décrit comme interagissant avec le BBSome BBSome Interacting Protein 1/10 kDa) chez un patient BBS. Les analyses fonctionnelles réalisées (western-blot, co-immunoprécipitation et injection de morpholino chez le poisson zèbre) confirment l'effet biologique majeur de cette mutation permettant ainsi d'expliquer le phénotype observé chez le patient.

Nous rapportons ici le premier patient BBS porteur d'une mutation dans le gène BBIP1. Ce gène encode pour la huitième sous-unité protéique du BBSome. Ceci permet ainsi de valider le gène BBIP1 comme le 18ème gène BBS.

**Mots-clefs :** Syndrome de Bardet-Biedl, Ciliopathie, Exome

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D119/#436

### Phénotype dentaire et corrélations génotype-phénotype dans les mutations du gène WNT10A : étude rétrospective portant sur 21 familles

François Clauss (1), Tardieu Corinne (2), Smail Hadj-Rabia (3), Schmittbuhl Matthieu (4), Nicole Philip (5), Emilie Consolini (6), Audrey Mallet (6), Marie-Cécile Manière (1)

1. Centre de référence pour les manifestations dentaires des maladies rares, Pôle de Médecine et de chirurgie Bucco-dentaires, Faculté de Chirurgie dentaire, Strasbourg, France
2. UMR 7268 ADES, Centre de compétence Maladies Rares, CHU Timone, Marseille, France
3. Centre de référence pour les génodermatoses, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Centre de Référence pour les Manifestations Dentaires des Maladies Rares, Pôle de Médecine et de Chirurgie Bucco-Dentaires, Faculté de Chirurgie Dentaire, Strasbourg, France
5. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Timone Enfants, Marseille, France
6. centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Timone Enfants, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Clauss François (francois.clauss@chru-strasbourg.fr)

#### Introduction

Les mutations du gène WNT10A sont impliquées dans la pathogenèse de différentes affections congénitales caractérisées par un large spectre phénotypique allant des oligodonties isolées à la dysplasie odonto-onycho-dermique (OODD) ou au syndrome de Schöpf-Schultz-Passarge (Castori et al., 2011). Des formes de dysplasie ectodermique hypohidrotique autosomique récessive sont associées à des mutations bi-alléliques du gène WNT10, consistant en formes odonto-onychiales ou tricho-odonto-onychiales. Le syndrome OODD est caractérisé par des atteintes ectodermiques, une hyperkératose palmo-plantaire et des télangiectasies faciales. Le syndrome SSPS correspond à l'expression phénotypique la plus sévère avec la présence de kystes palpébraux de type hydrocystomes apocrines.

#### Objectifs expérimentaux

Caractérisation de la sévérité des oligodonties

Identification des manifestations extra-orales

Corrélations génotype-phénotype dentaire

Matériel et méthodes

21 familles atteintes de mutations du gène WNT10A ont été incluses rétrospectivement au sein du Centre de Référence pour les Manifestations Dentaires des Maladies Rares de Strasbourg et du Centre de Compétence Maladies Rares de Marseille. Les critères d'inclusions sont une hypodontie-oligodontie isolée ou syndromique associée à une mutation identifiée (homozygote, hétérozygote, hétérozygote composite) du gène WNT10A. Les mutations ont été dans la majorité des cas identifiées en seconde intention après des résultats négatifs sur les gènes EDA, EDAR, EDARADD, MSX1, PAX9, KRT17 ou IRF6. Le séquençage des 4 exons du gène WNT10A, ainsi que des séquences introniques, a été réalisé à partir d'ADN provenant de prélèvements salivaires ou sanguins. Le phénotypage dentaire a été clinique et radiographique, basé sur un orthopantomogramme.

#### Résultats

Les patients présentant une mutation WNT10A homozygote, hétérozygote ou hétérozygote composite présentent une oligodontie caractérisée par une forte variabilité phénotypique. Les oligodonties en denture permanente vont de 7 agénésies, correspondant à une forme modérée, à 22 agénésies. Le nombre moyen d'agénésies en denture permanente est de 12.4, ce qui correspond à un tableau phénotypique sévère. La mutation hétérozygote composite a compté la moyenne la plus élevée (13.4 agénésies).

Des anomalies de taille sont fréquemment associées, consistant en microdontie des incisives, ainsi que des anomalies morphologiques



avec des incisives conoïdes. Des anomalies ectodermiques sont retrouvées chez une majorité de patients sous forme d'atteintes cutané-phanériennes variables. Les pathologies extra-ectodermiques sont moins fréquentes et consistent en asthme, otite, retard de maturation squelettique ou retard cognitif.

**Conclusions**

Une oligodontie associée à des anomalies dentaires de morphologie et de taille, ainsi que des atteintes ectodermiques et extra-ectodermiques constituent les principales manifestations phénotypiques des mutations WNT10A.

**Mots-clefs :** Oligodontie, Dysplasie ectodermique, WNT10A

**Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme**

D120/#438

**Association des variants c.-3279T>G (PBREM) et dup(TA) du promoteur du gène UGT1A1 dans le syndrome de Gilbert.**

Auréli HUBERT (1), Philippe LABRUNE (2), Karen MILCENT (2), Frédéric PARISOT (3), François PETIT (3)

1. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme hépatique, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
2. Pédiatrie, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France

**Auteur correspondant :** PETIT François (francois.petit@abc.aphp.fr)

**INTRODUCTION**

Plusieurs anomalies de séquence ont été impliquées dans le syndrome de Gilbert. Dans la population caucasienne, la dup(TA) dans le promoteur est la plus fréquente alors que dans la population asiatique, elle est relativement mineure au profit de la mutation c.211G>A dans l'exon 1. Une troisième anomalie de séquence, dans la séquence de liaison au phénobarbital ou PBREM (c.-3279T>G), a également été associée au syndrome de Gilbert.

Le but de cette étude était d'étudier la prévalence des deux variants c.3279T>G et dup(TA) et de leurs association dans une population de témoins et chez des patients adressés pour recherche de syndrome de Gilbert.

**MATERIELS ET METHODES**

La recherche du variant c.-3279T>G (PBREM) et du polymorphisme de longueur du promoteur (TATAbox) du gène UGT1A1 a été réalisée respectivement par amplification réfractaire à l'aide d'amorces fluorescentes et par mesure de longueur de fragments fluorescents.

226 patients adressés pour suspicion de syndrome de Gilbert dans le cadre d'une hyperbilirubinémie et 65 témoins ont été inclus.

**RESULTATS**

Bien qu'il n'y ait pas de différence significative de répartition des allèles de la TATAbox et du PBREM aussi bien pour les patients que pour les témoins entre les valeurs observées et les valeurs attendues, il existe un fort déséquilibre de liaison entre les deux groupes d'allèles. Les allèles TA5, TA7 et TA8 de la TATAbox ont été systématiquement et uniquement retrouvés associés avec l'allèle G du PBREM.

Pour l'association allélique TA6/TA7, la fréquence des génotypes T/T, T/G et G/G n'a pas été trouvée significativement différente entre les patients et les témoins.

**DISCUSSION-CONCLUSION**

Le génotype de la TATAbox a depuis plusieurs années été associé au phénotype syndrome de Gilbert. En revanche, le rôle du PBREM n'est pas clairement démontré.

Si des études in vitro ont montré une diminution de l'expression du gène UGT1A1 chez les patients TA6/TA7-G/G et TA7/TA7-G/G par rapport aux autres combinaisons (Li et al., 2009), il n'a cependant pas été possible de déterminer le poids du polymorphisme du PBREM

dans le phénotype car il n'a jamais été retrouvé d'association TA7-T. La diminution de l'expression avec l'association TA6/TA7-G/G ne semble pas avoir d'impact phénotypique car nous n'avons pas retrouvé de surreprésentation de cette association chez les patients par rapport aux témoins.

Le déséquilibre de liaison entre les deux variants peut être expliqué par l'apparition de la modification de la TATAbox dans la population possédant l'allèle G du PBREM et par la proximité physique des deux loci mais cette hypothèse seule ne permet pas d'expliquer la présence des allèles TA7, TA8 et surtout TA5 en présence de l'allèle G. Une autre hypothèse serait que la mutation c.-3279T>G induit une instabilité de la séquence poly(TA) du promoteur, aussi bien en duplication (TA7, TA8) qu'en délétion (TA5) alors que la configuration c.-3279G assure une meilleure stabilité de la région TATAbox.

**Mots-clefs :** syndrome de Gilbert, TATAbox, PBREM

**Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme**

D121/#441

**Syndrome de l'X fragile et hétérotopies périventriculaires, un seul ou deux syndromes?**

Alinoé Lavillaureix (1), Marion Gérard (2), Michel Baulac (3), Séverine Drunat (4), Cherif Beldjord (5), Alain Verloes (4), Sandrine Passemard (4)

1. Département de génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Département de génétique, Hôpital de Caen, Caen, France
3. Département de Neurologie, APHP - GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Département de génétique - INSERM U676, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Département de génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France

**Auteur correspondant :** Passemard Sandrine (sandrine.passemard@rdb.aphp.fr)

Les patients porteurs de la mutation complète X fragile (gène FMR1) présentent classiquement une déficience intellectuelle, des troubles du comportement et un risque accru de convulsions.

Dans le syndrome de l'X fragile, une épilepsie survient dans 12% des cas, débute entre 4 et 10 ans, et est plus fréquente chez les individus masculins que féminins. Bien que des études suggèrent que des troubles de migration neuronale pourraient être observés dans le syndrome de l'X fragile, l'origine des convulsions n'est pas systématiquement recherchée et une IRM cérébrale n'est réalisée que rarement chez ces patients. Nous rapportons la présence d'hétérotopies périventriculaires (HPV) chez un frère et une sœur porteurs de la mutation complète X fragile. Le garçon présente un phénotype X fragile classique avec déficience intellectuelle. Des mouvements anormaux remarqués durant le sommeil à l'âge de 10 ans ont conduit à des investigations mettant en évidence des HPV unilatérales. Sa sœur a présenté une épilepsie pharmacorésistante d'apparition tardive à l'âge de 18 ans et l'IRM a révélé des HPV nodulaires et laminaires bilatérales extensives. Des HPV n'ont été rapportées que chez 4 garçons présentant un syndrome de l'X fragile et n'ont jamais été décrites chez des filles. Nous discutons l'intérêt de la réalisation d'IRM cérébrale chez ces patients pour le suivi développemental et l'exploration des causes d'épilepsie. Ce cas confirme que les HPV pourraient être causées par les mutations complètes du gène FMR1 (>200 répétitions CGG) chez les individus masculins et devraient conduire à la recherche d'autres étiologies telles que des mutations du gène FLNA chez les individus féminins même dans le contexte de mutation complète X fragile.

**Mots-clefs :** X fragile, hétérotopies périventriculaires, épilepsie



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D122/#442

### Vers l'identification de nouveaux gènes impliqués dans les formes récessives précoces de la maladie de Parkinson

Suzanne Lesage (1), Anne-Sophie Coquel (1), Anne-Louise Leutenegger (2), Aurélie Honoré (1), Christel Condroyer (1), Alexandra Durr (1), Jean-François Deleuze (3), Alexis Brice (1)

1. INSERM UMR\_S975, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Inserm UMR\_S946, Fondation Jean Dausset, Paris, France
3. Centre National de Génotypage, CEA, Evry, France

**Auteur correspondant :** Lesage Suzanne (suzanne.lesage@upmc.fr)

**INTRODUCTION:** La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative invalidante, probablement due à des facteurs génétiques et environnementaux. Jusqu'à présent, plus de 15 régions chromosomiques et 6 gènes sont maintenant reconnus comme associés à des formes récessives monogéniques ou des formes atypiques de MP (Parkin/PARK2, PINK1/PARK6, DJ-1/PARK7, ATP13A2/PARK9, PLA2G6/PARK14 et FBXO7/PARK15) qui rendent compte de ~50% des formes récessives précoces. Ainsi, une proportion non négligeable de formes familiales avec MP restent encore inexpliquée sur le plan génétique.

**BUT DU TRAVAIL:** Nous proposons d'utiliser une stratégie combinant une approche de cartographie des régions homozygotes couplée à une recherche de réarrangements génomiques et du séquençage de l'exome dans des familles MP avec consanguinité et un âge de début de la maladie précoce ( $\leq 55$  ans) afin d'identifier rapidement et à moindre coût des nouveaux gènes associés à des formes récessives de MP.

**PATIENTS ET METHODES:** La cartographie des régions homozygotes est réalisée sur une série de 160 familles ou cas isolés consanguins avec MP, originaires d'Europe (n=38), Afrique du Nord (n=57), Turquie (n=61) and autres pays (n=4) exclus pour PARK2, PARK6, PARK7 et pour la mutation G2019S dans le gène LRRK2, grâce à des puces de génotypage à ADN (Illumina Infinium HD HumanCytoSNP-12 BeadChip) et une méthode originale d'analyse de liaison génétique qui permet d'inclure des cas isolés sans information généalogique. Ces puces à ADN permettent également de rechercher des réarrangements génomiques (grandes délétions ou duplications). Le séquençage de l'exome d'une série de 60 familles et patients non apparentés dont la consanguinité a été confirmée par détermination du facteur de consanguinité F a été réalisé en utilisant un kit de capture des exons (Agilent SureSelect 50 Mb Human All Exon Kit) et la technologie de séquençage à haut débit. Après des étapes de filtrage contre diverses bases de données et contre des critères de prédictions fonctionnelles de la protéine, conservation entre espèces animales et expression tissulaire, nous recherchons systématiquement des gènes avec des mutations ou des réarrangements génomiques rares et homozygotes.

**RESULTATS:** L'analyse de liaison génétique a permis d'identifier 2 régions chromosomiques (chr1 et 12) avec des Lod score  $\geq 2$ . Nous n'avons pas trouvé de grands réarrangements rares. Les résultats préliminaires d'analyse de séquençage d'exome ont permis d'identifier des mutations homozygotes dans les gènes ATP13A2, FBXO7 et KNDC1.

**CONCLUSION:** Comme preuve de concept, cette stratégie combinant une cartographie des régions homozygotes couplée à une recherche de réarrangements génomiques et du séquençage de l'exome, ainsi que la disponibilité d'une série unique de formes consanguines avec MP a permis d'identifier des mutations dans au moins 3 gènes, tous localisés dans des régions d'homozygotie.

**Mots-clefs :** Maladie de Parkinson, Séquençage à haut débit, Familles consanguines

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D123/#447

### Mutation Hot-spot chez un patient marocain atteint de la fibromatose systémique infantile

Imane Cherkaoui Jaouad (1), Soukaina Guaoua (2), Aicha Hajjioui (3), Abdelaziz Sefiani (4)

1. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
3. centre de pédiatrie, Centre de pédiatrie, Tétouan, Maroc
4. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** Cherkaoui Jaouad Imane (imane\_cj@yahoo.fr)

La fibromatose hyaline est une maladie héréditaire très rare, à transmission autosomique récessive caractérisée par une prolifération fibroblastique cutanée et articulaire avec à l'histologie des dépôts de substance hyaline. Cette maladie inclut 2 formes: la hyalinose systémique infantile et la fibromatose hyaline juvénile.

Nous rapportons ici la première description d'un patient marocain de 7 ans, né de parents consanguins et qui présentait depuis l'âge de 1 mois un retard statural de -3DS, des lésions cutanées papulo-nodulaires indolores au niveau de la bouche, oreilles et extrémités, une hypertrophie gingivale, un blocage en flexion des articulations des membres. L'examen histologique du nodule a permis de confirmer le diagnostic de fibromatose hyaline systémique chez ce patient. Le séquençage du gène CMG2 nous permis d'identifier la mutation c.1074delT dans une région Hot-spot du gène CMG2 à l'état homozygote chez le propositus. L'identification de cette mutation nous a permis de faire un diagnostic présymptomatique chez la soeur du propositus à J1 de vie, nous avons pu rassurer les parents puisque le nouveau né est porteur de la mutation à l'état hétérozygote.

A travers cette observation, nous montrons l'intérêt du diagnostic moléculaire dans la confirmation du diagnostic, la prise en charge précoce et l'établissement d'un conseil génétique adéquat.

**Mots-clefs :** hyalinose systémique infantile, fibromatose hyaline juvénile, CMG2

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D124/#448

### Le syndrome de Frank Ter Haar: A propos d'un cas et revue de littérature

Imane Cherkaoui Jaouad (1), Ilham Ratbi (2), Abdelaziz Sefiani (3)

1. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

2. Centre de génomique humaine, faculté de médecine et de pharmacie, université Mohamed V Soussi, Rabat, Maroc

3. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** Cherkaoui Jaouad Imane (imane\_cj@yahoo.fr)

Le syndrome de Frank Ter Haar ou syndrome de Melnick Needles like est une maladie génétique rare autosomique récessive caractérisée par une mégalocornée, des anomalies squelettiques multiples, une dysmorphie faciale caractéristique (brachycéphalie, fontanelles larges, front proéminent, hypertélorisme, yeux proéminents, cils longs, joues pleines et microrétrognathie) et un retard du développement psychomoteur. Ce syndrome est dû à des mutations du gène SH3PXD2B.

Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de 4 mois, de sexe féminin, 2ème d'une fratrie de deux, né de parents non consanguins, qui présente une dysmorphie faciale faite d'un hypertélorisme, une buphtalmie, un micrognathisme, une camptodactylie, et un retard de fermeture de la fontanelle antérieure. L'examen clinique de cette patiente trouve un pertuis sacré, une hernie ombilicale et des pieds bots.

Le bilan radiologique est en faveur d'un syndrome polymalformatif type Melnick's Needles Like. Les données cliniques et radiologiques nous ont permis de confirmer le diagnostic du syndrome de Frank Ter Haar. L'étude moléculaire du gène SH3PXD2B est en cours.

Ce cas est rapporté en raison de l'extrême rareté de l'affection (Moins de 30 cas rapportés dans le monde) et de la particularité des signes cliniques et radiologiques.

**Mots-clés :** Melnick's needles like, Maladie rare, Conseil génétique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D125/#450

### Formes ostéocondensantes associées à la mutation p.Ala242Thr du gène LRP5

Corinne Collet (1), Jean-Marc Trocello (2), Sophie Léandre (3), Jean-Louis Laplanche (4), Marie-Christine de Vernejoul (5)

1. UF de Génétique moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France

2. Service de Neurologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

3. UF de Génétique Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France

4. UF de Génétique Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France

5. Service de Rhumatologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Collet Corinne (corinne.collet@lrp.aphp.fr)

L'ostéopétrose autosomique dominante de type 1 est une maladie extrêmement rare, le plus souvent bénigne, asymptomatique et sans augmentation du risque de fracture. Cependant, les patients souffrent parfois de douleurs osseuses chroniques et de surdité. Elle est caractérisée principalement par un épaississement de la voûte crânienne et par une sclérose endostéale au niveau des diaphyses des os longs. Toutes les mutations responsables de cette maladie sont localisées dans les exons 2-4 de du gène LRP5 (low-density lipoprotein receptor-related protein 5). Nous rapportons, ici, le cas d'une forme grave d'ostéopétrose autosomique dominante de type 1. Le cas index est une femme de 44 ans qui consulte pour migraines chroniques depuis 15 ans s'aggravant d'années en années avec apparition d'une surdité gauche. Elle présente comme antécédents des avulsions d'une dizaine de dents, des otites à répétition et une obstruction nasale. Son père et son frère présentent des migraines et des signes radiologiques d'ostéocondensation. Au niveau radiologique, l'ostéodensitométrie montre chez cette patiente, un T-score à +8 au niveau du col fémoral et à +9 au niveau du rachis lombaire. Les clichés montrent un épaississement majeur de la voûte crânienne associée à une importante sclérose endostéale de la diaphyse des os longs. Les corps vertébraux sont denses sans aspect de « vertèbre sandwich ». Sur le plan neurologique sont diagnostiquées, une hypertension intracrânienne (HIC) avec présence d'un Chiari de type 1, des acouphènes et des auras migraineuses.

Au niveau biologique, les marqueurs osseux et l'activité des phosphatases alcalines (PAL) sont normaux. La patiente est porteuse de la mutation p.Ala242Thr à l'état hétérozygote dans LRP5. Cette mutation est aussi responsable d'une maladie évolutive, le syndrome de Worth qui se définit en plus par une ostéocondensation du pelvis, un torus palatinus, une exophtalmie, une hypertélorisme, un élargissement de la mandibule avec une augmentation de l'angle gonial, une HIC avec hernie des amygdales cérébelleux dans le foramen magnum, une atteinte neurologique avec surdité neurosensorielle et une élévation des PAL.

Au sein de cette famille est observée une importante variabilité clinique, le phénotype de cette patiente se rapproche du syndrome de Worth puisqu'elle présente une forme invalidante avec HIC et malformation de Chiari de type 1, cependant sa scintigraphie ne montre pas d'évolutivité et le taux des PAL est normal. Cette mutation, p.Ala242Thr responsable de formes bénignes et peu évolutives à l'âge adulte, nous amène à penser qu'un facteur génétique et/ou environnemental supplémentaire pourrait être à l'origine de cette variabilité phénotypique.

**Mots-clés :** ostéopétrose, LRP5, Hypertension intracrânienne

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D126/#451

### Syndrome cérébro-oculo-facio-squelettique (COFS) avec mutation homozygote d'ERCC1 sans anomalie de réparation de l'ADN par excision de nucléotide

Yline CAPRI (1), Vanina BELLA VOINE (2), Marion GERARD (3), Imen DORBOSE (4), Diane RODRIGUEZ (5), Vincent LAUGEL (6), Odile BOESPFLUG-TANGUY (2), Lydie BURGLEN (7)

1. Génétique médicale, CHU Robert Debré, Paris, France
2. Neuropédiatrie, CHU Robert Debré, Paris, France
3. Génétique médicale, CHU Caen, Caen, France
4. INSERM, CHU Robert Debré, Paris, France
5. Neuropédiatrie, CHU Trousseau, Paris, France
6. Pédiatrie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Génétique médicale, CHU Trousseau, Paris, France

**Auteur correspondant :** CAPRI Yline (yline.capri@rdb.aphp.fr)

Le syndrome cérébro-oculo-facio-squelettique (COFS) est une entité clinique aux bases moléculaires hétérogènes, caractérisée par une microcéphalie, une cataracte congénitale ou une microphthalmie, une arthrogrypose, un retard sévère de développement, un retard de croissance et une dysmorphie faciale. Cette pathologie fait partie du groupe des maladies avec défaut de réparation de l'ADN par excision de nucléotide (NER) auquel appartiennent également les syndromes de Cockayne, Xeroderma pigmentosum et la Trichotyodystrophie. Les gènes incriminés dans le syndrome COFS sont ERCC6, ERCC5, ERCC2, dans la majeure partie des cas. Des mutations d'ERCC1 ont été rapportées chez 1 seul patient. Le spectre clinique lié aux mutations d'ERCC1 semble large car les 3 patients décrits dans la littérature ont des phénotypes variables : le 1er présentait un syndrome COFS typique, le 2nd un syndrome de Cockayne de type II et le 3ème un syndrome Xeroderma pigmentosum qui a développé une neurodégénérescence. Dans les 2 premiers cas, un défaut partiel de réparation de l'ADN a été mis en évidence.

Nous rapportons un 4ème cas familial de mutation du gène ERCC1 entraînant, chez une première enfant, une microcéphalie progressive, une arthrogrypose, une encéphalopathie, une épilepsie, un retard de croissance, une hypoplasie cérébelleuse et un retard de myélinisation à l'IRM. La 2ème grossesse du couple a été interrompue à 34SA devant une récurrence de la pathologie. L'hypothèse du spectre COFS/Cockayne a été émise mais le test d'irradiation aux ultraviolets des fibroblastes du cas index n'a pas mis en évidence d'anomalie de réparation de l'ADN. L'étude des régions d'homozygotie couplée au séquençage d'exome a mis en évidence la mutation c.693C>G p.Phe231Leu (F231L) à l'état homozygote dans l'exon 7 du gène ERCC1 chez la patiente et le fœtus interrompu. La mutation F213L, est localisée au niveau d'un domaine fonctionnel de la protéine et concerne un acide aminé fortement conservé au cours de l'évolution. Cette mutation est impliquée chez 2 des 3 patients mutés dans ERCC1. Des tests fonctionnels de complémentation viennent conforter le caractère délétère de ce variant rare, non retrouvé chez plus de 6000 exomes contrôlés. L'ensemble de ces données, associées au statut de porteur hétérozygote des parents, nous a permis de proposer un diagnostic prénatal moléculaire au couple, dont l'issue s'est révélée favorable.

La description de ces 2 sujets issus de la même famille consanguine permet de préciser le spectre phénotypique lié aux mutations d'ERCC1. La récurrence de la même mutation du gène ERCC1 chez 3 familles non apparentées et d'origines ethniques différentes fait suspecter la présence d'un hot-spot mutationnel. L'absence de retentissement fonctionnel des mutations d'ERCC1 sur la voie de réparation par NER chez le sujet homozygote pourrait suggérer la prépondérance des anomalies transcriptionnelles dans la physiopathologie du syndrome COFS/Cockayne.

**Mots-clés :** Syndrome cérébro-oculo-facio-squelettique, ERCC1, Réparation de l'ADN

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D127/#455

### Etude d'une série de 76 patients avec mutation du gène GLI3: nouvelles corrélations génotype-phénotype

florence DEMURGER (1), Amale ICHKOU (2), Soumaya MOUGOU-ZERELLI (3), Sylvie MANOUVRIER (4), Chloé QUELIN (5), Valérie CORMIER-DAIRE (2), Alexandra AFENJAR (6), Jeanne AMIEL (2), Mélanie FRADIN (5), Geneviève BAUJAT (2), Gwenaëlle ANDRE (7), Odile BOUTE (8), Clarisse BAUMANN (9), Marie-Liesse CHAUVET (10), Geneviève DAVID (11), Martine LE MERRER (12), Anne-Lise DELEZOIDE (13), Daniel AMRAM (14), Marie-Ange DELRUE (15), Laurent PASQUIER (5), Louise DEVISME (16), Anne DIEUX-COESLIER (4), Ferechte ENCHA-RAZAVI (2), Laurence FAIVRE (17), Fabienne GIULIANO (18), Marie GONZALES (19), Géraldine GOUDEFROYE (2), Muriel HOLDER (4), Bertrand ISIDOR (20), Marie-Line JACQUEMONT (21), Amanda KRAUSE (22), Marilyn LACKMY-PORT-LIS (23), Fanny LAFFARGUE (24), Alain LIQUIER (25), André MEGARBANE (26), Sandra MERCIER (20), Arnold MUNNICH (2), Sheela NAMPOOTHIRI (27), Nicole PHILIP (28), Odile RAOUL (2), Serge ROMANA (2), Massimiliano ROSSI (29), Joëlle ROUME (30), Elise SCHAEFFER (31), Martine SINICO (32), Lionel VAN MALDERGEM (33), Catherine VINCENT-DELORME (34), Géraldine VIOT (35), Sylvie ODENT (36), Michel VEKEMANS (2), Tania ATTIE-BITACH (2)

1. Service de Génétique clinique, CLAD-Ouest, Hôpital sud, CHU de Rennes, Rennes, France
2. Département de Génétique, Hôpital Necker, APHP, PARIS, France
3. Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
4. Service de génétique clinique, CLAD-NdF, CHRU de Lille, Lille, France
5. Service de Génétique clinique, CLAD-Ouest, Hôpital sud, CHU de Rennes, RENNES, France
6. Service de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
7. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Pellegrin, BORDEAUX, France
8. Service de génétique clinique, CLAD-NdF, CHRU de Lille, LILLE, France
9. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, AP-HP, PARIS, France
10. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, PARIS, France
11. Département de Génétique médicale, CHU de Montpellier, MONTPELLIER, France
12. Inserm U781, Hôpital Necker, APHP, PARIS, France
13. Service de foetopathologie, Hôpital Robert Debré, AP-HP, PARIS, France
14. Unité de génétique clinique, CH Intercommunal de Créteil, CRETEIL, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
16. Institut de Pathologie, Centre de Biologie-Pathologie, CHRU de Lille, Lille, France
17. Centre de Génétique, Hôpital d'enfants, CHU de Dijon, Dijon, France
18. Service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet II, NICE, France
19. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, PARIS, France
20. Service de Génétique Médicale, Unité de génétique clinique, CLAD-Ouest, CHU de Nantes, NANTES, France
21. Unité de Génétique Médicale, CHU La Réunion, Saint Pierre, France
22. Division de Génétique Humaine, Hospital St Hillbrow, Johannesburg, Afrique du sud
23. Unité de génétique Clinique, CHU de Pointe à Pitre, POINTE A PITRE, France
24. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
25. Laboratoire de Cytogénétique, Biooffice, BORDEAUX, France
26. Unité de génétique médicale, Faculté de Médecine, Université St Joseph, Beyrouth, Liban
27. Département de Génétique pédiatrique, Amrita Institute of Medical Sciences, Kerala, Inde
28. Département de Génétique médicale, Hôpital d'Enfants de La Timone, Marseille, France
29. Service de Génétique, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
30. Unité de génétique médicale, CH Poissy St-Germain-en-Laye, POISSY, France
31. Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, STRASBOURG, France
32. Service d'Anatomie Pathologique, CH Intercommunal de Créteil, CRETEIL, France
33. Centre de génétique humaine, Université de Franche-Comté, Besançon, France
34. Service de Génétique, CH d'Arras, ARRAS, France
35. Unité de Génétique, Maternité Port-Royal, Hôpital Cochin, PARIS, France
36. Service de Génétique clinique, CLAD-Ouest, Hôpital sud, CHU de RENNES, RENNES, France

**Auteur correspondant :**  
 (florencecedemurger@hotmail.com)

DEMURGER Florence

Le spectre phénotypique des mutations du gène *GLI3* comprend les syndromes de Greig (GCPS) et de Pallister-Hall (PHS) de transmission autosomique dominante. Le syndrome de Pallister-Hall initialement décrit comme une affection létale en période néonatale associe des anomalies telles qu'un hamartome de l'hypothalamus, une polydactylie centrale ou postaxiale, une imperforation anale et une épiglotte bifide. Le syndrome de Greig est moins sévère et se caractérise par des polysyndactylies des mains et des pieds et une dysmorphie craniofaciale. Des polydactylies isolées préaxiales et postaxiales ont également été rapportées chez des patients mutés dans le gène *GLI3*. Une corrélation génotype-phénotype a pu être établie selon la position et la nature de la mutation, corroborant le rôle bifonctionnel de répresseur ou d'activateur du facteur *GLI3* au cours du développement. Nous rapportons dans cette étude les résultats cliniques et moléculaires d'une série de 76 patients issus de 55 familles présentant une mutation (49 GCPS et 21 PHS) ou une délétion du gène *GLI3* (6 GCPS).

La plupart des mutations sont nouvelles et concorde avec la corrélation précédemment décrite. Une macrosomie a été constatée chez au moins 12% des patients GCPS, signe non décrit précédemment dans le syndrome. Nos résultats montrent par ailleurs une corrélation entre la position C-terminale de la mutation et la présence d'anomalies du corps calleux observés chez certains patients GCPS. L'absence de mutation faux-sens du domaine répresseur dans notre série et la littérature pourrait suggérer l'existence d'un phénotype encore non décrit lié des mutations dans ce domaine qui sera, s'il existe, probablement identifié grâce à la généralisation du séquençage haut débit.

La description de cas fœtaux présentant un PHS sévère rappelle la possible létalité de ce syndrome et étend le spectre phénotypique à des malformations cranio-faciales et à des dysplasies squelettiques sévères. De façon intéressante, les mutations mises en évidence chez les fœtus présentant un phénotype sévère siègent toutes dans une sous-région du « domaine PHS », au niveau de la région de transactivation par liaison de CBP. L'expression de *GLI3* étudiée par hybridation in situ au cours du développement humain confirme l'expression précoce de *GLI3* dans les tissus cibles.

Cette étude a permis de mettre en évidence de nouveaux signes non décrits précédemment telle la macrosomie dans le GCPS et l'agnathie dans le PHS, et d'affiner la corrélation phénotype génotype notamment pour les anomalies du corps calleux et les formes fœtales sévères. *GLI3* est un facteur de transcription cible de la voie Sonic Hedgehog agissant à travers le cil primaire. Le chevauchement phénotypique entre hedgehogopathies et ciliopathies souligne le rôle primordial du cil primaire dans la transduction du signal Sonic Hedgehog, par conséquent, le rôle majeur de la dérégulation de la voie SHH dans les malformations observées dans les ciliopathies.

**Mots-clés :** *GLI3*, Syndrome de Greig, Syndrome de Pallister-Hall

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D128/#456

### Séquençage haut-débit ciblé des exons de 70 gènes pour le diagnostic des leucodystrophies : résultats préliminaires sur 47 patients et une observation surprenante

Claire Redin (1), Imen Dorboz (2), Julien Masliah (2), Séverine Drunat (3), Stéphanie Le Gras (4), Michaël Dumas (4), Bernard Jost (4), Jean Muller (1), Lydie Burglen (5), Vincent Laugel (6), Fanny Mochel (7), Diana Rodriguez (5), Frédéric Sedel (8), Enrico Bertini (9), Aurora Pujol (10), Odile Boespflug-Tanguy (2), Jean-Louis Mandel (1)

- Département de médecine translationnelle et neurogénétique, IGBMC, Illkirch, France
- Inserm U676, Université Paris 7 Denis Diderot, Paris, France
- Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
- Plateforme de biopuces et séquençage haut-débit, IGBMC, Illkirch, France
- Centre de Référence des malformations et maladies congénitales du cerveau, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
- Department of Pediatrics, Strasbourg-Hautepierre University Hospital, Strasbourg, France
- Département de Neuropathologie, Hôpital La Salpêtrière, Paris, France
- Département de Neurologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
- Unit for Neuromuscular and Neurodegenerative Diseases, Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italie
- Neurometabolic Diseases Laboratory, Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Espagne

**Auteur correspondant :** Redin Claire Redin Claire (redin@igbmc.fr)

Le terme leucodystrophies (LDs) regroupe un ensemble vaste et hétérogène de maladies monogéniques résultant d'anomalies du processus de myélinisation (formation et/ou maintien) dans le système nerveux central, provoqué par un dysfonctionnement des cellules gliales (notamment les oligodendrocytes). A ce jour, des mutations dans plus de 60 gènes ont été reportées et identifiées comme à l'origine de différentes formes de LDs.

Dans certains cas, les données du patient (analyses IRM, traits phénotypiques, marqueurs biochimiques...) permettent d'orienter le clinicien vers un gène candidat, conduisant ainsi à un rendu diagnostic pour environ 35% d'entre eux. Cependant, des formes incomplètes ou atypiques de LDs peuvent rendre cette approche peu fructueuse. De plus, certaines formes cliniques démontrent une grande hétérogénéité génétique: pour des patients exhibant des manifestations cliniques très similaires, les mutations causales peuvent être retrouvées dans des gènes différents. Cette hétérogénéité au niveau moléculaire rend la recherche exhaustive de mutations impossible en termes de coût et de temps avec les stratégies de séquençage dites 'classiques'.

Nous avons développé une approche de screening moléculaire par séquençage à haut débit ciblé, basé sur la capture et le séquençage des exons codants de 70 gènes impliqués dans des formes monogéniques de LDs. Cette approche permet à la fois la détection de mutations ponctuelles, de petites insertions/délétions, mais également de délétions ou duplications d'exons ou d'un gène entier aussi bien à l'état homozygote/hémi-zygote qu'hétérozygote. Cette capacité de détection des CNVs est d'importance majeure, notamment dans la maladie de Pelizaeus-Merzbacher pour laquelle des duplications, triplications ou délétions entières de *PLP1* sont fréquemment retrouvées.

Une preuve de concept a été effectuée sur 14 patients avec mutations connues, permettant de retrouver 96% des allèles mutés. L'ADN de 33 autres patients avec LDs d'origine génétique non déterminée a été séquencé via cette même approche, permettant d'identifier la mutation causale chez 6 patients (dans les gènes *DARS2*, *GFAP*, *MLC1*, *PLP1* et *RNASEH2B*). Chez 5 autres patients, nous avons identifié à l'état hétérozygote une mutation pathogénique (troncante ou d'épissage dans 4 cas) dans des gènes associés à des formes récessives de LD (*ARSA*, *EARS2*, *GBE1*, *PEX1*) sans qu'une deuxième mutation n'ait pu être détectée. Cette observation surprenante nécessite des investigations complémentaires et la confrontation avec les données



cliniques de chaque patient. Il paraît en effet peu probable que la totalité de ces mutations manquantes se situent dans des régions non codantes et soient donc non détectées par notre stratégie de capture d'exons. Parmi les hypothèses restantes on peut évoquer l'oligogénisme, ou encore la présence d'un variant hypomorphe sur le 2ème allèle dont la fréquence relativement élevée l'aurait fait paraître non pathogénique.

**Mots-clés :** Leucodystrophies, Séquençage haut-débit ciblé, Diagnostic

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D129/#459

### Mise en évidence de grands réarrangements dans le gène SGCE chez 3 patients atteints de dystonie myoclonique

Chankannira San (1), Domitille Gras (2,3), Cécile Cazeneuve (1), Agnès Camuzat (4,5,6), David Grabli (3,4,5,6), Emmanuel Roze (3,4,5,6), Marie Vidailhet (3,4,5,6), Diane Doummar (7), Jean-Luc Houeto (8), Ludmila Jornea (4,5,6) Alexandra Durr (1,4,5,6), Alexis Brice (1,3,4,5,6), Eric LeGuern (1,4,5,6), Fabienne Clot (1) et Réseau des Dystonies Françaises.

1. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France.
2. Service de Neuropédiatrie et Maladies Métaboliques, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France.
3. Département de Neurologie, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France.
4. Inserm, UMR\_S975, CRICM, Paris, France.
5. UPMC Université Paris 06, UMR\_S975, Paris, France.
6. CNRS, UMR 7225, Paris, France.
7. Service de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
8. Service de Neurologie, CHU de Poitiers, France.

**Auteur correspondant :** CLOT Fabienne (fabienne.clot@psl.aphp.fr)

La dystonie myoclonique est un syndrome associant des contractions musculaires brèves et rapides, qui entraînent des mouvements anormaux et/ou des mouvements de torsion aboutissant à des anomalies posturales. L'âge de début de la maladie survient pendant l'enfance ou l'adolescence et un début après l'âge de 20 ans est exceptionnel. Les symptômes initiaux sont le plus souvent des myoclonies qui peuvent être isolées ou s'associer à une dystonie. Un début par une dystonie isolée peut également être observé dans 20% des cas. Le phénotype typique est caractérisé par la présence de myoclonies isolées ou associées à une dystonie légère à modérée (torticolis ou dystonie de l'écriture), l'ensemble des symptômes prédominant à la partie supérieure du corps. Les myoclonies sont souvent présentes au repos et aggravées dans la posture et le mouvement et elles sont très sensibles à l'ingestion d'alcool.

La maladie se transmet sur le mode autosomique dominant à pénétrance réduite. Le gène SGCE responsable de la maladie, localisé sur le chromosome 7q21, est soumis à empreinte maternelle. Il code pour la protéine de l'épsilon sarcopglycane. La majorité des mutations décrites dans le gène SGCE sont des mutations ponctuelles (non-sens, faux sens, petites insertions ou délétions ou mutations affectant les sites d'épissage). Quelques rares réarrangements ont été identifiés, mais leur fréquence reste probablement sous estimée car leur recherche n'est pas systématique.

Afin de préciser la fréquence des grands réarrangements du gène SGCE dans les formes typiques de dystonie myoclonique, nous avons analysé 48 patients non porteurs d'une mutation ponctuelle du gène SGCE par la technique de multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA ; Kit P099 ; MRC-Holland). Nous avons identifié 3 patients porteurs à l'état hétérozygote de délétions partielles (délétions des exons 1 à 4, des exons 2 à 9, et de l'exon 5). Deux des 3 patients sont des cas isolés avec un âge de début de 18 mois et 6 ans. Le troisième patient est un cas familial avec empreinte maternelle ayant débuté la maladie à l'âge de 18 mois. La dystonie myoclonique est présente aux membres supérieurs chez tous les patients (mains et cou) et aux membres inférieurs chez un des patients.

Dans notre cohorte de patients atteints de forme typique de dystonie myoclonique et non porteurs d'une mutation ponctuelle du gène SGCE, 6% des patients sont porteurs de grands réarrangements. L'utilisation de la MLPA est donc un outil indispensable dans le diagnostic moléculaire des dystonies myocloniques de forme typique.

**Mots-clés :** dystonie myoclonique, SGCE, grands réarrangements

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D130/#462

### Identification d'une nouvelle mutation dans le gène FAM20A à l'origine d'une amélogenèse imparfaite associée à une hyperplasie gingivale et une néphrocalcinose

Mathilde HUCKERT (1), Corinne STOETZEL (2), Noura ZOUARI (3), Megana PRASAD (2), Hélène DOLLFUS (2), Agnès BLOCH-ZUPAN (4)

1. Centre de référence pour les Manifestations Odontologiques des Maladies Rares, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Génétique Médicale UMR\_S 1112, Faculté de Médecine, Strasbourg, France
3. Service de Pédiatrie, CHU SAHLOUL, Sousse, Tunisie
4. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire UMR 7104 et INSERM U964, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** HUCKERT Mathilde (mhuckert@unistra.fr)

#### Introduction

Les amélogenèses imparfaites constituent un groupe hétérogène de maladies rares affectant la structure de l'émail, isolées ou associées à d'autres symptômes dans le cadre de syndromes. Dans le syndrome ERS Enamel-renal syndrome (OMIM #204690), des mutations du gène FAM20A (chr17q24.2) ont été mises en évidence (Wang 2013, Jaureguiberry 2013).

Le Centre de référence pour les Manifestations Odontologiques des Maladies Rares de Strasbourg a été sollicité par le Service de Pédiatrie et Génétique de Sousse (Tunisie) pour un avis à distance, concernant le diagnostic clinique et moléculaire d'une patiente atteinte d'amélogenèse imparfaite de type hypoplasique, d'hyperplasie gingivale et de néphrocalcinose.

Devant ce tableau clinique, le diagnostic d'ERS à transmission autosomique récessive a été évoqué et un séquençage du gène causal FAM20A, pour un diagnostic moléculaire de confirmation, a été proposé via le projet de recherche INTERREG IV/Offensive Sciences A27 "Manifestations bucco-dentaires des maladies rares".

#### Matériel et Méthodes

L'ADN réceptionné a été séquençé par technique standard de Sanger. Les régions exoniques et introniques proches ont été amplifiées par PCR. Dix couples de primers spécifiques ont été conçus à l'aide du logiciel Primer3 à partir des séquences de référence du site internet Ensembl et leur unicité a été vérifiée sur UCSC. Le séquençage bidirectionnel des produits PCR purifiés a été réalisé par GATC Biotech (Allemagne) sur Applied Biosystems® ABI 3730xl. Les séquences ont été alignées et comparées aux séquences de référence avec le logiciel SeqScape (v2.6, Applied Biosystems®).

#### Résultats

L'analyse bidirectionnelle des séquences obtenues montre la présence d'une mutation dans le gène FAM20A c.[1361+1G>A] à l'état homozygote au niveau du site donneur d'épissage chez le sujet atteint. Les deux parents sont hétérozygotes pour cette mutation.

Les sites de prédiction indiquent que cette mutation entraîne la perte du site donneur physiologique d'épissage. Cette modification pourrait avoir un impact sur l'ARN constitué et donc sur la protéine.

#### Discussion et conclusion

La découverte de cette nouvelle mutation confirme le diagnostic d'ERS pour la patiente et montre l'importance de l'observation combinée du phénotype bucco-dentaire et général dans l'orientation du diagnostic.

#### Financement

Ce projet, lauréat de l'Offensive Sciences de la Région Métropolitaine Trinationale du Rhin supérieur (RMT), est cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional (FEDER) de l'Union européenne dans le cadre du programme INTERREG IV Rhin supérieur.

**Mots-clefs :** Amélogenèse imparfaite, Néphrocalcinose, FAM20A

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D131/#466

### Signes cliniques évocateurs d'un syndrome de Marfan chez l'enfant de moins de 10 ans.

Fanny Laffargue (1), Anne Lienhardt-Roussie (2), Didier Lacombe (3), Marie-Ange Delrue (3)

1. Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. Pédiatrie, Hôpital de la mère et de l'Enfant, Limoges, France
3. Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France

**Auteur correspondant :** Laffargue Fanny (flaffargue@chu-clermontferrand.fr)

Le diagnostic de syndrome de Marfan est difficile chez le jeune enfant en raison de la grande variabilité d'expression de la maladie et de l'évolution du phénotype au cours du temps. L'objectif de cette étude rétrospective était d'étudier les premiers signes cliniques chez l'enfant de moins de 10 ans porteur d'un syndrome de Marfan. Nous avons également testé les nouveaux critères de Ghent de 2010 par rapport aux anciens de 1996 afin d'en apprécier la pertinence. Dix-sept patients âgés de moins de 10 ans lors du diagnostic et porteurs d'une mutation du gène FBN1 ont été inclus. L'ensemble des données cliniques et des avis spécialisés (ophtalmologique, cardiaque et orthopédique) obtenus lors de la première consultation ont été analysés. Les signes cliniques les plus souvent observés étaient le palais ogival (82%), l'arachnodactylie (71%) et les pieds plats (59%). La mise en évidence d'une dilatation de l'aorte significative (47%) ou d'une ectopie du cristallin (35%) pouvait également être un mode de découverte de la maladie. Selon les critères de Ghent de 2010, le diagnostic de syndrome de Marfan pouvait être retenu chez 71% des patients contre 59% avec les anciens critères. Tous les systèmes peuvent être atteints très tôt dans l'enfance. Un diagnostic précoce est essentiel pour mettre en place une prise en charge adaptée, tant sur le plan cardiaque, ophtalmologique, qu'orthopédique.

**Mots-clefs :** Syndrome de Marfan, enfants de moins de 10 ans, critères de Ghent

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D132/#471

### Identification d'un taux important de mutations causales dans une cohorte de 107 patients avec déficience intellectuelle inexpliquée par une approche de séquençage haut-débit ciblé (220 gènes)

Amélie Piton (1), Claire Redin (1), Bénédicte Gérard (2), Jean Muller (1), Julia Lauer (2), Yvan Herenger (2), Stéphanie Le Gras (3), Serge Vicaire (4), Muriel Philipps (3), Michael Dumas (4), Audrey Creppy (2), F consortiums de cliniciens généticiens (5), Bernard Jost (3), Jean-Louis Mandel (6)

1. Neurogénétique et médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
2. laboratoire de diagnostic génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
3. plateforme biopuces et séquençage haut-débit, IGBMC, Illkirch, France
4. plateforme biopuces et séquençage haut-débit, IGBMC, Strasbourg, France
5. Laurence Faivre (Dijon), Alice Masurel (Dijon), Bertrand Isidor (Nantes), Gaëtan Lesca (Lyon), Marjolaine Willems (Montpellier), Patrick Edery (Lyon), Salima El-Chehadeh (Dijon), Damien Sanlaville (Lyon), Martine Doco-Fenzy (Reims), David Geneviève (Montp. F, France, France)
6. collège, de France, Paris, France

**Auteur correspondant :** Piton Amélie (piton@igbmc.fr)

L'hétérogénéité génétique de la déficience intellectuelle (DI), avec plus de 300 gènes connus pour être impliqués dans des formes monogéniques de DI, rend son diagnostic moléculaire difficile et peu efficace. L'offre diagnostique reste souvent limitée aux tests de l'X fragile et à une analyse CGH-array, particulièrement pour les patients pour lesquels les données cliniques n'évoquent pas un syndrome en particulier. Ces tests aboutissent dans le meilleur des cas à 10-15% de diagnostics positifs, laissant un grand nombre de cas de DI sans diagnostic moléculaire établi. Nous avons développé une approche d'enrichissement ciblé par hybridation (SureSelect, Agilent) de gènes impliqués dans la DI (100 sur le chromosome X et 120 sur les autosomes) couplé à du séquençage haut-débit chez 107 patients avec DI inexpliquée. Nous avons pu identifier 25 mutations causales (chez 23,5% des patients) : 16 affectent des gènes du chromosome X, et sont soit héritées (MECP2, MAOA, SLC9A6, DMD, FMR1, MCT8/SLC16A2, IL1RAPL1, CUL4B, PHF8, HCFC1, ATRX, KDM5C) soit de novo (MECP2 x2, IQSEC2, KDM5C) et les 9 autres sont de novo dans des gènes impliqués dans des formes de DI autosomiques dominantes (TCF4 x2, DYRK1A x2, SYNGAP1, GRIN1, MED13L, RAI1, SLC2A1). Nous avons également identifié, chez 7 autres patients (6,5%), des mutations potentiellement causales dont l'implication dans la DI doit encore être validée par des analyses complémentaires (NLGN3, PQBP1, SLC2A1, TCF4, SHANK3, FMR1). L'identification de mutations causales ou probablement causales chez 23-30% des patients, une proportion comparable à ce qui est obtenu par séquençage d'exome entier (16%-41% dans 100 trios, de Ligt et al. et 31%-43% dans 51 trios, Rauch et al., 2012), valide la pertinence de cette approche de séquençage ciblé pour le diagnostic de la déficience intellectuelle. Les résultats obtenus au cours de cette étude ont également permis de confirmer l'implication de gènes dans la DI (MAOA, NLGN3, MED13L), d'identifier certains gènes mutés de façon récurrente (MECP2, KDM5C, TCF4, DYRK1A) et d'étendre le phénotype associé à certains gènes connus jusqu'ici pour n'être impliqué que dans des formes de DI syndromiques (DMD, TCF4). Enfin, ce travail a également permis d'identifier ou de confirmer des signes cliniques récurrents associés à des mutations dans certains autres de ces gènes (DYRK1A, HCFC1, IQSEC2).

**Mots-clefs :** déficience intellectuelle, séquençage haut-débit, mutation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D133/#474

### Recherche de facteurs génétiques modificateurs de l'atteinte hépatique dans la maladie de Rendu-Osler

Sophie GIRAUD (1), Sophie DUPUIS-GIROD (2), Claire BARDEL-DANJEAN (3), Marie-France CARETTE (4), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (5), Sophie RIVIERE (6), Jean-Christophe SAURIN (7), Mélanie EYRIES (8), Alain KITZIS (9), Evelyne DECULLIER (10), Claudia Bibiana PAEZ (2), Alain CALENDER (11), Gaëtan LESCA (11)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Lyon, France
2. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Louis Pradel, Centre de Référence National pour la maladie de Rendu-Osler, Bron, France
3. CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Université Claude Bernard-Lyon 1, Villeurbanne, France
4. Service de Radiologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Tenon, Paris, France
5. Service de Génétique, CHU la Milétrie, Poitiers, Poitiers, France
6. Service de Médecine Interne, CHU de Montpellier, Hôpital St Eloi, Montpellier, France
7. Service de Gastro-Entérologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital. Herriot, Lyon, France
8. Département de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Laboratoire de Génétique, CHU la Milétrie, Poitiers, France
10. pôle IMER, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Université Claude Bernard-Lyon 1, Lyon, France

**Auteur correspondant :** GIRAUD Sophie (sophiel.giraud@wanadoo.fr)

La maladie de Rendu-Osler (RO), à transmission autosomique dominante, se manifeste par des malformations artério-veineuses responsables d'épistaxis, de télangiectasies cutanéo-muqueuses et de fistules artérioveineuses situées au niveau du foie, du poumon et du système nerveux central. Trois gènes sont impliqués dans cette maladie : ENG, ACVRL1 et MADH4, intervenant dans la voie de signalisation du TGF-beta dans la cellule endothéliale. Les mutations de ENG entraînent plus de complications pulmonaires et les mutations de ACVRL1 plus de complications hépatiques ; toutefois il existe une grande variabilité clinique inter et intrafamiliale, suggérant l'existence de gènes modificateurs. Ce travail a porté sur la recherche de facteurs génétiques modificateurs de l'atteinte hépatique.

Nous avons sélectionné 354 patients, tous porteurs d'une mutation des gènes ENG et ACVRL1 et explorés sur le plan hépatique, dont les caractéristiques cliniques et génétiques avaient été collectées dans la base de données française des patients RO. Les patients ont été séparés en fonction de leur atteinte hépatique suivant la classification de Gincul et al de 2008 : stade 1 pour les patients sans atteinte hépatique, stades 2 et 3 respectivement pour les patients avec une atteinte hépatique moyenne ou sévère. Nous avons génotypé chez ces patients 50 SNPs couvrant 9 gènes impliqués dans la voie du TGF-beta.

Nous avons testé l'association entre ces SNPs et l'atteinte hépatique (stade 1 vs stades 2+3) par un modèle de régression logistique à effet mixte, permettant ainsi de prendre en compte les relations de parenté entre les individus (package R Pedigreeem, A Vazquez, 2010). L'âge lors du diagnostic hépatique, le sexe ainsi que le gène muté ont été incluses comme co-variables dans le modèle. Le sexe féminin, un âge au diagnostic hépatique élevé et une mutation dans ACVRL1 étant trouvés associés significativement aux atteintes hépatiques sévères. Parmi les 50 SNPs, cinq (dont 3 dans ACVRL1) montrent une tendance à être associés à l'atteinte hépatique mais ne sont pas significatifs après correction de bonferroni pour les tests multiples; seul un SNP de ACVRL1 sort significatif et nous sommes en train de vérifier s'il n'est pas en déséquilibre de liaison avec une mutation de ACVRL1 fortement représentée chez nos patients. Nous avons aussi comparé les types de mutations dans les différents groupes et, chez les porteurs d'une mutation dans ACVRL1, nous retrouvons une

proportion de mutations tronquantes plus élevée chez les patients avec une atteinte hépatique et inversement pour les mutations faux sens.

En conclusion nous confirmons dans ce travail le rôle important du gène ACVRL1 dans le déterminisme des atteintes hépatiques de la maladie de RO. L'étude des corrélations génotype-phénotype sur le type de mutations d ACVRL1 est en cours chez un plus grand nombre de patients. Il serait aussi important de pouvoir répliquer cette étude sur une nouvelle cohorte de patients.

**Mots-clefs :** maladie de Rendu-Osler, gène modificateur, malformation artérioveineuse hépatique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D134/#475

### POLG : quand le séquencer dans les maladies neurologiques de l'adulte ?

Maya Tchikviladzé (1), Mylène Gilleron (2), Thierry Maisonobe (3), Damien Galanaud (4), Pascal Laforêt (5), Alexandra Durr (6), Bruno Eymard (5), Fanny Mochel (6), Hélène Ogier (7), Anthony Béhin (5), Tanya Stojkovic (5), Bertrand Degos (8), Isabelle Gourfinkel-An (8), Frederic Sedel (8), Mathieu Anheim (8), Odile Dubourg (3), Sandrine Filaut (9), Isabelle Lemièrre (9), Alexis Elbaz (8), Karine Viala (3), Marie Vidailhet (8), Alexis Brice (10), Claude Jardel (11), Anne Lombès (12)

1. Département de neurologie, hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
2. Service de Biochimie Métabolique, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
3. Département de neurophysiologie et neuropathologie, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
4. Département de Neuroradiologie, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
5. Centre de Référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, Institut de Myologie, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
6. Génétique Médicale, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
7. Maladies héréditaires du métabolisme, APHP-Hôpital Robert Debré, Paris, France
8. Département de neurologie, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
9. UF Cardio et myogénétique, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
10. ICM-Institut du cerveau et de la moelle, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
11. Service de Biochimie Métabolique, UF de cardio et myogénétique, AP-HP-Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
12. INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France

**Auteur correspondant :** Jardel Claude (claude.jardel@psl.aphp.fr)

Les maladies mitochondriales dans leur ensemble sont de présentations cliniques très diverses. C'est également le cas de celles dues à des mutations du gène POLG codant pour l'ADN polymérase mitochondriale, que l'on a proposées comme cause de 25 % des maladies mitochondriales de l'adulte. Le but de notre travail a été d'évaluer la spécificité et la sensibilité des signes / symptômes considérés comme indicatifs d'une maladie liée à POLG dans une population de 154 patients adultes suivis en Neurologie. Le gène POLG a été séquencé chez tous ces patients permettant de les classer en 3 groupes selon qu'ils présentaient des mutations affectant les deux allèles POLG (n= 34 ; groupe POLG + / +), un allèle (n= 10; groupe POLG + / -) ou aucun allèle (n=110 ; groupe POLG -/-). La comparaison des patients des groupes POLG + / + et POLG - / - a permis d'établir la spécificité et la sensibilité des signes associés à des mutations POLG incluant les signes / symptômes cliniques et les résultats des explorations électroneuromyographiques, d'imagerie cérébrale et des investigations ciblées sur la mitochondrie : analyse histologique et histochimique musculaire, mesure des activités de la chaîne respiratoire et recherche de délétions multiples de l'ADN mitochondrial (ADNmt).

Une sensibilité élevée mais une faible spécificité sont obtenues à partir de signes cliniques isolés (neuropathie sensitive, syndrome cérébelleux, troubles du mouvement, faiblesse musculaire axiale ou d'un membre, atteinte des muscles oculomoteurs ou pharyngés). La spécificité est améliorée en combinant ces signes avec l'existence de symptômes psychiatriques, de troubles cognitifs et/ou d'épilepsie. Seule l'association d'une neuropathie sensitive à une faiblesse des muscles oculomoteurs, des muscles axiaux et / ou du pharynx permet d'allier une haute sensibilité et une haute spécificité. L'évolution progressive et l'atteinte concomitante de plusieurs systèmes neurologiques et musculaires sont caractéristiques.

Sur le plan paraclinique, l'électroneuromyographie permet d'affirmer la neuropathie sensitive qui peut parfois être discrète cliniquement,



d'autre part la présence d'altérations mitochondriales sur l'histologie musculaire et la présence de délétions multiples de l'ADNmt dans le muscle apportent des éléments d'orientation mais ne sont pas suffisantes pour le diagnostic. Les autres investigations n'apportent pas d'éléments de diagnostic positif.

Nous montrons donc, sur une grande série française de patients adultes issus de services de Neurologie, un profil reproductible des phénotypes associés aux mutations POLG qui permet de proposer un arbre décisionnel pour le séquençage de POLG.

**Mots-clefs :** POLG, maladies mitochondriales, arbre décisionnel

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D135/#478

### Congenital disorder of Glycosylation syndrome de type IA (PMM2-CDG): Etude phénotypique et génétique d'une cohorte française de 29 patients adultes

Marie-Lorraine Monin (1), Nathalie Seta (2), Pascale De Lonlay (3), Bénédicte Héron (4), Alice Masurel (5), Michèle Mathieu-Dramard (6), Christel Thauvin (5), Marion Gérard (7), Emmanuel Roze (8), Aurélie Jacqueline (1), Perrine Charles (1), Cyril Mignot (1), Delphine Héron (1)

1. Consultation de Génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Laboratoire de Biochimie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
3. Services des Maladies Métaboliques, Hôpital Necker, Paris, France
4. Service de Neuropédiatrie et Maladies du développement, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Service de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
6. Service de Génétique, CHU Amiens, Amiens, France
7. Service de Génétique, CHU Caen, Caen, France
8. Département de Neurologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Monin Marie-Lorraine (mlblas@live.fr)

Le CDG syndrome (« Congenital Disorder of Glycosylation ») Ia, ou PMM2-CDG est une affection autosomique récessive affectant le métabolisme des glycoprotéines, due à une déficience en phosphomannomutase. Cette maladie rare est bien décrite chez l'enfant, où elle s'exprime sous la forme d'une atteinte multi-systémique sévère débutant le plus souvent en période néonatale, ou sous la forme d'un retard psychomoteur associé à un syndrome cérébelleux. L'évolution de ces formes modérées est mal connue à l'âge adulte.

Nous présentons ici la plus large cohorte, nationale, de patients atteints de PMM2-CDG âgés de plus de 15 ans. Parmi les 50 cas répertoriés en 2012 par les laboratoires français réalisant ce diagnostic, 29 patients âgés de 15 à 49 ans ont pu être inclus dans cette analyse rétrospective.

Tous les patients sauf un ont présenté les premiers symptômes (hypotonie, strabisme et retard des acquisitions) avant la fin de la première année. L'ataxie cérébelleuse est constante et 25/29 patients ont acquis la marche (autonome ou avec aide). 3 patients l'ont perdu au cours de l'évolution. Au moins 9/29 patients présentent des signes évolutifs de neuropathie des membres inférieurs. Aucun patient n'a présenté d'épisode « stroke-like » à l'âge adulte mais près d'un quart des patients a présenté une ou plusieurs thromboses veineuses dans l'enfance et à l'âge adulte. 70% ont une scoliose, qui, combinée à une ostéoporose précoce, majorent les troubles moteurs et entraînent une atteinte ventilatoire. Aucun patient n'a été scolarisé en filière générale et la moitié des patients a un travail en milieu protégé. Le suivi médical a été interrompu chez 60% des patients, souvent lors de la transition du milieu pédiatrique au milieu adulte. Devant l'évolution de certains symptômes à l'âge adulte, associée aux problématiques propres aux handicaps moteur et intellectuel, le maintien d'un suivi en milieu spécialisé doit être une priorité.

**Mots-clefs :** PMM2-CDG, Congenital Disorder of Glycosylation, Ataxia

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D136/#484

### Des mutations du gène TOR1AIP1 causent une dystonie sévère associée à une atrophie cérébelleuse et une cardiomyopathie

Marie Coutelier (1), Imen Dorboz (2), Anne T. Bertrand (3), Jean-Hubert Caberg (4), Monique Elmaleh-Bergès (5), Jeanne Lainé (6), Giovanni Stevanin (7), Gisèle Bonne (8), Odile Boespflug-Tanguy (9), Laurent Servais (10)

1. Laboratoire de Génétique Humaine, Institut de Duve, UCL, Bruxelles, Belgique / Laboratoire de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, NEB, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. U676, INSERM, Paris, France
3. Inserm, U974 / Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, UM 76; CNRS, UMR 7215, Institut de Myologie, Paris, France
4. Service de Génétique, CHU du Sart Tilman, Liège, Belgique
5. Service d'Imagerie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Site Pitié-Salpêtrière, Département de Physiologie / Inserm, U974 / Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, UM 76; CNRS, UMR 7215, Institut de Myologie, Paris, France
7. ICM-Institut du Cerveau et de la Moelle épinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6) / Laboratoire de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Inserm, U974 / Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, UM 76; CNRS, UMR 7215; Institut de Myologie / AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, U.F. Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Inserm, U676 / Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
10. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires, Hôpital de La Citadelle, 4000 Liège, Belgique / Service des essais cliniques et bases de données, Institut de Myologie, Paris, France

**Auteur correspondant :** Servais Laurent (l.servais@institut-myologie.org)

La dystonie est une forme fréquente de mouvements anormaux, caractérisée par des contractions simultanées pathologiques des muscles agonistes et antagonistes, générant une anomalie de la posture et/ou du mouvement. Les causes en sont hétérogènes ; une histoire familiale ou une apparition précoce des symptômes peuvent suggérer une origine génétique. Parmi les formes monogéniques, quinze gènes ont été décrits à ce jour, et d'autres loci ont été impliqués sans que le gène causal ne soit identifié. Dans les dystonies pures primaires, le gène le plus fréquemment incriminé est TOR1A, situé sur le locus DYT1, et codant pour la torsine A, une protéine ATPase AAA+.

Nous rapportons le cas d'un garçon d'origine marocaine issu d'une famille consanguine, qui, après un développement moteur normal jusqu'à l'âge de trois ans, a présenté une dystonie d'abord située au niveau des membres inférieurs, puis rapidement progressive, et complètement généralisée à l'âge de dix ans. Ces symptômes étaient accompagnés d'une atrophie cérébelleuse progressive, puis d'une cardiomyopathie dilatée à l'âge de quatorze ans.

Le séquençage de l'exome complet a permis d'isoler une mutation faux-sens homozygote dans le gène TOR1AIP1, qui code pour la protéine LAP1 (lamina-associated polypeptide 1). Cette protéine transmembranaire, située dans l'enveloppe nucléaire interne, et exprimée tant dans les cellules neuronales que non-neuronales, est un interacteur direct de la torsine A.

L'atteinte multisystémique décrite ici concorde bien avec le fait que LAP1 est exprimée dans tous les types cellulaires. En revanche, les anomalies ultrastructurelles de la membrane nucléaire, rapportées chez la souris TOR1AIP1<sup>-/-</sup>, ne sont pas retrouvées dans les fibroblastes du patient, où la protéine mutée est pourtant exprimée. L'étude en immunofluorescence a mis en évidence une relocalisation de LAP1 de l'enveloppe nucléaire vers le réticulum endoplasmique. La localisation de la torsine A n'est par contre pas modifiée, contrairement à ce qui est observé chez les patients porteurs de la mutation la plus fréquente de TOR1A, chez qui la protéine est relocalisée du réticulum

endoplasmique vers l'enveloppe nucléaire. En Western-blot, il est également noté une diminution de l'expression de LAP1 chez le patient. Ces éléments nous confortent dans l'incrimination de TOR1AIP1 dans ce cas ; il s'agit du premier patient décrit avec des mutations dans ce gène.

**Mots-clés :** dystonie, atrophie cérébelleuse, TOR1AIP1

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D137/#486

### Etude des points de cassures introniques du gène DMD par puce de CGH et séquençage chez des patients porteurs de délétions : étude des mécanismes moléculaires des réarrangements

Isabelle MAREY (1), Rabah BEN YAHOU (2), Nathalie DEBURGRAVE (2), Béatrice COMBA (2), Aurélie VASSON (2), Juliette NECTOUX (2), France LETURCQ (2), Jamel CHELLY (3), Mireille COSSEE (4)

1. Service de génétique clinique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Service de biochimie et génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
3. Service de biochimie et génétique moléculaire; Génétique et physiopathologie de maladies neurodéveloppementales et neuromusculaires, Institut COCHIN, Hôpital Cochin, Paris, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire; INSERM U827, CHU Montpellier, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** MAREY Isabelle MAREY Isabelle (isabelle.marey@yahoo.fr)

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) et son variant allélique plus modéré la dystrophie musculaire de Becker (BMD) sont des maladies récessives liées au chromosome X dues à des mutations du gène de la dystrophine. Les larges délétions et duplications rendent compte d'environ 2/3 des anomalies retrouvées dans le gène de la dystrophine avec deux points chauds de délétion (exons 2-20 et exon 45-55). Un des facteurs majeurs des corrélations phénotype-génotype est le respect ou non du cadre de lecture et d'une fonctionnalité partielle de la dystrophine. Toutefois, une certaine variabilité phénotypique existe, même au sein de groupes de patients porteurs de délétions emportant les mêmes exons. Par ailleurs, malgré la grande fréquence des délétions au sein du gène DMD, peu de données ont été publiées sur les mécanismes des grands réarrangements au sein de ce gène.

Nous avons donc mis à profit le développement au laboratoire de diagnostic d'une puce de CGH à façon du gène DMD dans son intégralité (sondes exoniques et introniques), pour étudier de façon plus précise les points de cassure des délétions chez des patients atteints de dystrophinopathie, afin d'étudier les mécanismes moléculaires et de rechercher d'éventuelles corrélations entre la localisation intronique des points de cassure et la variabilité phénotypique des patients.

Nous avons analysé par CGH une cohorte de 57 patients (51 non apparentés) porteurs d'une délétion comprise entre les exons 45 et 55. Les points de cassure identifiés en CGH étant suffisamment précis pour orienter le choix d'amorces spécifiques, nous avons pu séquencer les fragments de jonction et les séquences environnantes chez 21 patients (20 non apparentés). Ces études nous ont permis de montrer i) que la répartition des points de cassure au sein des introns n'est pas homogène, certains points de cassure étant très proches voire identiques, suggérant la présence de caractéristiques moléculaires favorisant les cassures de l'ADN ii) que des séquences répétées de même type sont fréquemment retrouvées de chaque côté des points de cassure récurrents, suggérant un mécanisme prédominant de NAHR (recombinaison homologue non allélique) pour ces délétions iii) que des micro-homologies et autres particularités de séquence aux points de cassure sont plus fréquemment retrouvées qu'une répartition aléatoire, suggérant que des mécanismes de NHEJ (non homologous end joining) sont également en cause, notamment pour les points de cassure non récurrents.

Par ailleurs, les études de corrélations phénotype-génotype n'ont pas mis en évidence de corrélation évidente entre la localisation intronique des points de cassure et la variabilité phénotypique des patients.

**Mots-clés :** dystrophine, mécanisme moléculaire, NHEJ

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D138/#487

### Etudes génétique des patients Tunisiens présentant 46, XY DSD due à une anomalie de synthèse ou d'action de testostérone.

Bochra Ben Rhouma (1), Neila Belguith (2), Fatma Abdelhedi (3), Nourhène Gharbi (4), Thouraya Kamoun (5), Mouna Mnif (6), Hassen Kamoun (7)

1. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, faculté de médecine, Sfax, Tunisie
2. Génétique, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
3. service de génétique, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
4. service de génétique, service de génétique, Sfax, Tunisie
5. service de pédiatrie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
6. service d'Endocrinologie, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
7. Service de génétique, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Ben Rhouma Bochra (bochra.benrhouma@gmail.com)

La testostérone est une hormone stéroïde du groupe androgénique sécrétée principalement chez l'homme, son rôle est primordial durant la vie fœtale dans le développement de l'appareil génital masculin. Après la naissance et à la puberté, elle assure la spermatogénèse et l'apparition et le maintien des caractères sexuels secondaires masculins. La sécrétion de testostérone est stimulée par l'hormone LH (hCG au cours de la vie fœtale) au niveau des cellules de Leydig testiculaire avec une sécrétion accessoire assurée par les glandes surrénales. La conversion du cholestérol en testostérone se fait via plusieurs enzymes notamment le HSD17B3. L'action androgénique est assurée par la testostérone ou par son métabolite 5 alpha réduit : le Dihydrotestostérone, via le récepteur aux androgènes AR. Les défauts de synthèse ou d'action de testostérone sont à l'origine des anomalies de différenciations sexuelles chez l'homme ou 46, XY Disorders of Sex Development, se caractérisant par un spectre clinique singulièrement polymorphe qui va du phénotype masculin presque complet au phénotype féminin.

A la recherche des anomalies génétiques de synthèse ou d'action de testostérone, nous avons colligé cinq patients tunisiens présentant un 46, XY DSD ; ayant tous un phénotype féminin. L'hypothèse d'une anomalie de synthèse de testostérone a été mise en évidence chez un patient présentant un taux effondré de testostérone alors que pour le reste des patients, une anomalie d'action des androgènes a été suspectée à cause des taux normaux de testostérone. Les deux hypothèses ont été confirmées par l'identification d'une mutation p.C206X chez la première patiente au niveau du gène HSD17B3 et l'identification de deux mutations non sens p.R787X et p.R753X au niveau du récepteur AR chez le reste des patients.

En guise de conclusion, le profil hormonal est très important pour s'orienter en cas de 46, XY DSD ; un défaut de synthèse ou un défaut d'action de testostérone doivent être suspecté devant un taux effondré ou un taux normal de testostérone respectivement. L'étude génétique est très utile pour confirmer le diagnostic clinique et pour donner le conseil génétique adéquat pour les familles à risque.

**Mots-clefs :** 46, XY Disorders of Sex development, synthèse de testostérone, profil hormonal

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D139/#488

### Nouvelle mutation du gène GJA1 chez une famille tunisienne avec une dysplasie oculo-dento-digitale

Ahlem Attig (1), Mediha Trabelsi (1), Syrine Hizem (1), Faouzi Maazoul (1), Lilia Kraoua (1), Rym Meddeb (1), Ines Ouertani (1), Emira Ben Hmida (2), Ridha Mrad (1), Habiba Chaabouni (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service de néonatalogie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Attig Ahlem (attig.ahlem@gmail.com)

#### INTRODUCTION :

La dysplasie oculo-dento-digitale (ODD) est une maladie génétique rare caractérisée cliniquement par une atteinte pléiotropique associant typiquement une atteinte oculaire avec une microphthalmie et une microcornée, une dysmorphie faciale incluant un aspect long et étroit du nez avec hypoplasie des ailes du nez, une dystrophie de l'émail dentaire ainsi qu'une syndactylie de type III. Ce syndrome est dû à des mutations du gène GJA1 codant pour la connexine CX43. Ces mutations sont réparties sur les différents domaines de la protéine et aucune corrélation génotype phénotype n'a été jusque-là décrite pour ce syndrome.

#### PATIENTS ET METHODES :

Etude clinique et génétique, par séquençage du gène GJA1, de trois individus appartenant à deux générations successives d'une famille tunisienne qui présente un syndrome ODD.

#### RESULTATS ET DISCUSSION :

Tous les individus atteints de cette présentent une forme typique de l'ODD avec une variabilité intrafamiliale relativement limitée. Les signes cliniques cardinaux d'ODD sont présents chez tous les individus atteints, incluant la dysmorphie faciale typique, la microphthalmie, la microcornée, la syndactylie de type III des doigts et la raréfaction des cheveux. Cette famille a en plus la particularité de présenter des signes neurologiques avec une anticipation du délai d'apparition de ces signes en passant de la première à la deuxième génération.

L'analyse du gène GJA1 a révélé une délétion de trois nucléotides chez les trois individus atteints de la famille étudiée. Le caractère polymorphe de cette variation non préalablement décrite est peu probable du fait de son absence chez 50 témoins indemnes de la maladie et de sa ségrégation avec la maladie. Cette mutation correspond au niveau protéique à une délétion de deux acides aminés successifs hautement conservés entre les espèces avec insertion d'un nouvel acide aminé au niveau de la région L2, domaine fonctionnellement important de la protéine CX43.

En incluant nos résultats aux données de la littérature, nous suggérons que les mutations de la région L2 de la CX43 sont associées aux manifestations neurologiques de l'ODD.

#### CONCLUSION :

La dysplasie oculo-dento-digitale est une pathologie rare à transmission autosomique dominante. L'analyse du gène GJA1 dans cette famille tunisienne a permis d'élargir le spectre mutationnel de ce syndrome et de suggérer la présence d'une corrélation génotype phénotype.

**Mots-clefs :** dysplasie oculo-dento-digitale, GJA1, mutation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D140/#489

### Nouveau cas de mutations du gène CEP57 chez une patiente présentant un Syndrome d'Aneuploïdie en Mosaïque (SAM).

Lucile PINSON (1), Linda MANNINI (2), Marjolaine WILLEMS (1), Francesco CUCCO (2), Thierry FREBOURG (3), Valentina QUARANTOTTI (2), Corinne COLLET (4), Anouck SCHNEIDER (5), Pierre SARDA (1), David GENEVIEVE (1), Jacques PUECHBERTY (1), Geneviève LEFORT (5), Antonio MUSIO (2)

1. Centre de Référence « Anomalie du Développement et Syndromes Malformatifs », Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pise, Italie
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen, France
4. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
5. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** PINSON Lucile (l-pinson@chu-montpellier.fr)

Le syndrome d'aneuploïdie en mosaïque ou SAM (Mosaic variegated Aneuploidy) est une maladie autosomique récessive rare, caractérisée d'un point de vue cytogénétique par des aneuploïdies variables, intéressant différents tissus et chromosomes. La proportion de cellules aneuploïdes est souvent supérieure à 25%.

Les sujets atteints présentent habituellement un retard de croissance à début anténatal, des éléments morphologiques mineurs et une microcéphalie plus ou moins associés à une déficience intellectuelle variable, des anomalies du système nerveux central, des anomalies ophtalmologiques et cardiaques. Certains patients développent précocement des cancers tels que des leucémies, des tumeurs de Wilms et des rhabdomyosarcomes.

Des mutations monoalléliques ou bialléliques du gène BUB1B et des mutations bialléliques du gène CEP57, gènes impliqués respectivement dans le fuseau mitotique et la stabilisation des microtubules, sont responsables d'un certain nombre de syndromes d'aneuploïdie en mosaïque.

A ce jour, l'implication du gène CEP57 n'a été rapportée que dans 4 cas. Nous décrivons le cas d'une fillette de 4 ans, issue d'une union consanguine, porteuse à l'état homozygote de la mutation c.915-925dup11 du gène CEP57 (p.Leu309ProfsX9).

Cette patiente présente des caractéristiques classiques du syndrome (retard de croissance pré- et post-natal, éléments morphologiques mineurs, déficience intellectuelle légère) mais également d'autres signes cliniques, pour lesquels nous tentons d'établir des corrélations phénotype-génotype.

La patiente présente un raccourcissement rhizomélisque des membres supérieurs. Ce signe clinique, déjà observé chez deux autres patients mutés CEP57, et non observé chez les patients mutés BUB1B, pourrait être un élément spécifique de l'atteinte de ce gène.

Notre patiente ne présente pas de microcéphalie mais un périmètre crânien normal avec la constitution rapide d'une crâniosténose. Aucune crâniosténose n'est rapportée chez les patients mutés CEP57 mais deux des quatre patients rapportés ont un périmètre crânien conservé avec un remodelage crânien (bosses temporales, saillance de la suture métopique). Aucune mutation dans les principaux gènes responsables de crâniosténose (FGFR2, FGFR3 et TWIST1) n'a été identifiée chez notre patiente. De façon intéressante, le gène CEP57 est un partenaire du gène FGF2, lui-même un des ligands du gène FGFR2, ce qui pourrait suggérer sa participation dans le modelage crânien.

Enfin, contrairement aux patients mutés BUB1B, notre patiente, de même que les quatre cas rapportés dans la littérature, n'ont pas développé de tumeurs. Il est cependant nécessaire de poursuivre la surveillance car aucun des patients n'a atteint l'âge adulte.

L'existence d'un raccourcissement rhizomélisque des membres supérieurs, d'anomalies du crâne avec conservation du périmètre crânien et/ou l'absence de développement tumoral pourraient orienter vers des mutations du gène CEP57 chez les patients atteints de SAM.

**Mots-clefs :** Syndrome d'Aneuploïdie en Mosaïque, CEP57, BUB1B

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D141/#494

### Implication de mutations du gène FAM111B dans la Poikilodermie Héréditaire Fibrosante avec rétractions tendineuses, myopathie et fibrose pulmonaire

Sandra Mercier (1), Sébastien Küry (2), Nonhlanhla Khumalo (3), Gasnat Shaboodien (4), Nathalie Bodak (5), Chantal Bou-Hanna (6), Valérie Cormier-Daire (7), Albert David (1), Laurence Faivre (8), Dominique Figarella-Branger (9), Romain Gherardi (10), Alice Goldenberg (11), Antoine Hamel (12), Jeanine Igual (13), Dominique Israel-Biet (14), Caroline Kannengiesser (15), Christian Laboisie (16), Cédric Le Caignec (2), Pierre Lindenbaum (17), Armelle Magot (18), Arnold Munnich (7), Jean-Marie Mussini (19), Juliette Piard (20), Komala Pillay (21), Eve Puzenat (22), Richard Redon (17), Emmanuelle Salort-Campana (23), Nadem Soufir (24), Christel Thauvin (8), Bernard Keavney (25), Sébastien Barbarot (26), Bongani Mayosi (27), Stéphane Bézieau (28)

1. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, Centre de Référence Anomalies de Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Grand-Ouest, CHU Nantes, Nantes, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
3. Division of Dermatology, Department of Medicine, Groote Schuur Hospital and University of Cape Town, Cape Town, Afrique du sud
4. Cardiovascular Genetics Laboratory, Hatter Institute for Cardiovascular Research in Africa, Department of Medicine, Groote Schuur Hospital and University of Cape Town, Cape Town, Afrique du sud
5. Service de dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
6. EA 4273 Biometadys, Université de Nantes, Faculté de Médecine, Nantes, France
7. U781, Fondation Imagine, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP, Paris, France
8. Centre de Référence Anomalies de Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Grand-Est et Centre de Génétique, Equipe d'accueil EA 4271 GAD "Génétique des Anomalies du Développement", IFR Santé STIC, Hôpital d'Enfants, CHU, Université de Bourgogne, Dijon, France
9. Service d'Anatomopathologie et de Neuropathologie, Hôpital La Timone, Marseille, France
10. Service d'Anatomopathologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
11. Service de Génétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
12. Service de Chirurgie Infantile, CHU Nantes, Nantes, France
13. Service de pneumologie, CH de Marne la Vallée, Jossigny, France
14. Service de Pneumologie, Université Paris Descartes, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
15. Service de Génétique, Hôpital Bichat, AP-HP, Université Paris Diderot, Paris, France
16. Service d'Anatomopathologie et de Neuropathologie, CHU Nantes, Nantes, France
17. l'Institut du thorax, Inserm, UMR 1087 - CNRS, UMR 6291, CHU et Université de Nantes, Nantes, France
18. Service des Explorations fonctionnelles, Centre de référence des maladies neuromusculaires, CHU Nantes, Nantes, France
19. Laboratoire d'Anatomopathologie A, CHU Nantes, Nantes, France
20. Service de Génétique Médicale, CHU Besançon, Besançon, France
21. Division of Anatomical Pathology, Department of Clinical Laboratory Sciences, National Health Laboratory Service and University of Cape Town, Cape Town, Afrique du sud
22. Service de Dermatologie, CHU Besançon, Besançon, France
23. Service de Neurologie, Centre de Référence des maladies Neuromusculaires et Sclérose Latérale Amyotrophique, Hôpital de la Timone, Marseille, France
24. Service de Génétique, INSERM U976, AP-HP, Hôpital Bichat, Paris, France
25. Institute of Genetic Medicine, Faculty of Medical Sciences, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, Royaume-Uni
26. Clinique dermatologique, CHU Nantes, Hôtel Dieu, Nantes, France



27. Cardiovascular Genetics Laboratory, Hatter Institute for Cardiovascular Research in Africa, Department of Medicine, Groote Schuur Hospital and University of Cape Town, Cape Town, France

28. Service de Génétique Médicale, EA 4273 Biometadys, CHU et Université de Nantes, Nantes, France

**Auteur correspondant :** Mercier Sandra (sandra.mercier@chu-nantes.fr)

L'équipe sud-africaine de Khumalo et al. a précédemment proposé une nouvelle entité autosomique dominante de Poikilodermie Héritaire Fibrosante (PHF) associée à des rétractions tendineuses et une fibrose pulmonaire progressive. Nous avons identifié le gène responsable de ce nouveau syndrome, FAM111B, par séquençage d'exome complet réalisé chez un cas sporadique (étude de trio) et dans la famille sud-africaine. Au total, cinq mutations faux-sens pathogènes ont été mises en évidence dans la famille sud-africaine et chez sept autres cas sporadiques d'origine ethnique différente. Celles-ci sont toutes regroupées au sein du domaine enzymatique putatif de la protéine FAM111B dont la fonction est encore inconnue.

Cette maladie se manifeste dès la petite enfance par une poikilodermie avec des anomalies télangiectasiques et pigmentaires, plus volontiers localisées sur le visage et les zones photo-exposées, une hypotrichose et une hypohidrose. Une rétraction musculaire des triceps suraux est généralement observée dans l'enfance. Il s'associe chez la majorité des patients un déficit musculaire progressif distal et proximal des quatre membres avec une infiltration adipeuse majeure constatée lors de l'imagerie musculaire et de l'examen anatomopathologique. L'atteinte pulmonaire survient au cours de la deuxième voire troisième décennie de vie par l'apparition d'une dyspnée progressive et d'un syndrome restrictif secondaire à une fibrose pulmonaire.

L'étude histologique révèle une atteinte sclérodéformante de la peau avec une dégénérescence particulière du réseau de l'élastine. La biopsie musculaire montre une infiltration scléro-adipeuse diffuse non associée à une dénervation, ni à une nécrose ou une inflammation significatives, mais avec présence de fibres résiduelles soit normales, soit dystrophiques. Par ailleurs, une étude autopsique d'un patient rapportait également une fibrose pulmonaire, de l'œsophage et des ganglions.

Au total, ces résultats apportent la preuve de l'implication du gène FAM111B dans cette forme particulière de PHF. Des études fonctionnelles sont en cours pour essayer de comprendre les mécanismes physiopathologiques conduisant à une adipose et une fibrose multisystémique.

**Mots-clefs :** poikilodermie, myopathie, fibrose

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D142/#498

### Élargissement du spectre phénotypique des mutations du gène ATP7A grâce au séquençage ciblé de l'exome du chromosome X

Sébastien Moutton (1), Agnès Delahodde (2), Maeva Langouet (1), Christine Bole-Feysot (3), Karine Siquier-Pernet (1), Patrick Nitschke (4), Christelle Vasnier (2), Smail Hadj-Rabia (1), Josiane Arnaud (5), Ling Yi (6), Anthony Drecourt (1), Keyur Patel (6), Nathalie Boddaert (7), Arnold Munnich (1), Jean-Paul Bonnefont (1), Stephen G Kaler (6), Jeanne Amiel (1), Laurence Colleaux (1)

1. INSERM U781, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

2. CNRS, UMR 8621, Institut de Génétique et Microbiologie, Université Paris-Sud, Orsay, France

3. Plateforme de Génomique, Institut IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

4. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, Université Paris Descartes, Paris, France

5. Département de biochimie, toxicologie et pharmacologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France

6. Unit on Human Copper Metabolism, Molecular Medicine Program, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, Bethesda, USA

7. Département de radiologie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Moutton Sébastien (sebastienmoutton@hotmail.fr)

Une grande famille dans laquelle ségrège un déficit intellectuel lié à l'X a été étudiée en combinant une analyse de liaison et un séquençage de l'exome du chromosome X (technologie RainDance). Les 6 patients masculins présentaient une encéphalopathie épileptique. L'épilepsie débutait entre 2 et 22 mois et comprenait des crises myocloniques, des crises fébriles et un syndrome de Lennox-Gastaut. Une variation faux-sens (c.3670G>A; p.Gly1224Ser) du gène codant pour la protéine ATP7A (ATPase de type P transporteur du cuivre) a été identifiée. Cette variation ségrégeait parfaitement avec la maladie. Les tests de complémentation chez la levure utilisant la souche mutante ccc2Δ de *S. cerevisiae* a permis de démontrer sa pathogénicité puisque l'ADN complémentaire du gène ATP7A muté n'était pas capable de restaurer une croissance normale dans des conditions de restriction nutritionnelle.

Les mutations du gène ATP7A sont responsables de 3 maladies génétiques liées à l'X. La maladie de Menkes constitue la forme la plus sévère et comprend des troubles de déglutition dans les premiers mois, un retard du développement et des crises convulsives. Ce diagnostic est habituellement confirmé par une diminution des taux de cuivre et de céruloplasmine sanguins et une accumulation du cuivre intra-cellulaire par altération de son efflux. Le syndrome de la corne occipitale est caractérisé par un retard du développement plus léger, une dysautonomie et des anomalies du tissu conjonctif débutant dans la petite enfance. Enfin la neuropathie motrice distale est une maladie neurologique de début plus tardif ressemblant à la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 2.

Comme aucun de ces diagnostics n'avaient été évoqués dans notre famille, une réévaluation détaillée des patients a été réalisée. L'IRM cérébrale a montré une morphologie des vaisseaux sanguins intra-cérébraux normale mais une surcharge en métal des noyaux gris centraux. Malgré un aspect morphologique normal des cheveux, de rares pili torti incomplets ont pu être mis en évidence. Les analyses biochimiques ont révélé de façon surprenante une céruloplasminémie normale et une élévation discrète de la cuprémie alors que le dosage du cuivre dans les fibroblastes était abaissé. Enfin, l'immunocytochimie a montré une localisation normale de la protéine ATP7A mutée dans les fibroblastes d'un des patients.

Cette observation élargit donc le spectre des phénotypes associés aux mutations du gène ATP7A. Des analyses complémentaires sont en cours afin de mieux comprendre le mécanisme physiopathologique

sous-tendant cette condition probablement différente des mutations responsables du spectre Menkes-syndrome de la corne occipitale.

**Mots-clefs :** ATP7A, déficit intellectuel lié à l'X, épilepsie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D143/#508

### Etude des mutations du gène CMG2/ANTRX2, à propos de 9 familles atteintes de hyalinose systémique infantile.

martine doco-fenzy (1), Bénédicte demeer (2), émilie landais (3), alain verloes (4), maria celeste m. ramirez (5), John Martignetti (6), michèle mathieu (2), oana moldovan (7), dragana josifova (8), niklas dahl (9), tessa homfray (10), sujatha jagadeesh (11), pauline feucher (12), chrysteale mangeonjean (12), dominique gaillard (1)

1. génétique, EA 3801, SFR CAP Sante, CHU Reims, Reims, France
2. génétique, CHU Amiens, Amiens, France
3. Plateforme PRBI, CHU Reims, Reims, France
4. génétique, CHU Robert Debré, Paris, France
5. genetique, consultant, Santa Clara, USA
6. Genetics, Mount Sinai School of medicine, New York, USA
7. genetique, hospital santa maria, Lisbonne, Portugal
8. Clinical Genetics Department, Guy's Hospital London, London, Royaume-Uni
9. Section of Clinical Genetics, hospital, Upsala, Suède
10. Medical Genetics, St George's University, London, Royaume-Uni
11. Mediscan, Mylapore, Chennai, Inde
12. genetique, CHU Reims, Reims, France

**Auteur correspondant :** doco-fenzy martine (jean-baptiste.doco@orange.fr)

La hyalinose systémique infantile est une maladie rare grave, autosomique récessive, caractérisée par le dépôt de matériel hyalin dans les tissus cutané, le tractus digestif, les muscles et les ganglions lymphatiques avec des formes sévères chez le nouveau né. Les enfants présentent précocément des douleurs aiguës et des contractures progressives. Il est noté une peau hyperpigmentée, des nodules osseux ou sous-cutanée, une hypertrophie gingivale massive et des nodules charnus dans la région péri-anale. L'examen histologique des biopsie cutanées montre le dépôt d'une substance amorphe hyaline au niveau de la peau ou des muqueuses. Le décès des enfants survient souvent dans les 2 premières années. Des mutations délétères du gène Capillary Morphogenesis Gene-2 (CMG2) alias Anthrax Toxin Receptor 2 (ANTRX2) ont été rapportées dans plusieurs familles atteintes de cette pathologie. Le gène ANTRX2/CMG2 localisé en 4q21 est composé de 16 exons majoritairement de petite taille (entre 44 et 167 pb). Des mutations ont été rapportées dans la littérature concernant la quasi-totalité des exons mais de façon préférentielle les exons 13, 14 et 15. Nous rapportons une cohorte de 9 familles dont un ou plusieurs enfants présente(nt) une hyalinose infantile diagnostiquée par plusieurs cliniciens dans le monde et pour lesquels nous avons analysé les mutations de 2011 à 2013. La plupart des familles était d'origine indienne ou pakistanaise. L'étude génétique, réalisée par séquençage Sanger, a permis d'identifier une mutation causale chez 6 enfants atteints ainsi que de rechercher la présence de la ou des mutation(s) connue(s) chez 22 apparentés dont 6 sur des prélèvements foetaux. Pour 6 familles, le probant était porteur d'une mutation à l'état homozygote, pour 2 familles, il s'agissait d'une mutation hétérozygote composite et pour une famille d'une mutation hétérozygote probablement associée à une délétion. Pour 5 sur 8 anomalies, les mutations étaient des mutations faux sens avec apparition d'un codon stop (4/5) ou au niveau du site d'épissage (1/5) et 3 étaient des duplications ou délétions concernant 1 à 2 bases induisant un décalage du cadre de lecture. La moitié des mutations avaient été préalablement décrites dans la littérature. Les 3 mutations non connues sont localisées dans les exons 1 et 10 et au niveau du site

d'épissage entre l'intron 8 et l'exon 9. Cette pathologie est caractéristique sur le plan clinique, il n'existe pas aujourd'hui de traitement, l'étude génétique est le seul outil de prévention.

**Mots-clefs :** CMG2, ANTRX2, hyalinose systémique infantile

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D144/#514

### Prédisposition génétique à la survenue d'une pancréatite chez les patients atteints de mucoviscidose

Marion Viel (1), Dominique Hubert (2), Pierre Regis Burgel (2), Brigitte Martinez (3), Jeanne Chapron (2), Natacha Gaitch (3), Isabelle Honoré (2), Reem Kanaan (2), Daniel Dusser (2), Thierry Bienvenu (3)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, GH Cochin - Broca - Hôtel Dieu, Paris, France
2. Service de Pneumologie, GH Cochin - Broca - Hôtel Dieu, Paris, France
3. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, GH Cochin - Broca - Hôtel Dieu, Paris, France

**Auteur correspondant :** Bienvenu Thierry (thierry.bienvenu@inserm.fr)

La mucoviscidose (CF) est une exocrinopathie généralisée se traduisant par des sécrétions visqueuses et insuffisamment hydratées dans différents organes. Une insuffisance pancréatique exocrine ne se développe que chez les patients CF porteurs de deux mutations dites « sévères » du gène CFTR. Ainsi, les patients porteurs d'au moins une mutation « modérée » présentent dans la très grande majorité des cas une activité CFTR pancréatique résiduelle. 15 à 17 % des patients CF présentant une fonction pancréatique résiduelle ont ainsi présenté une pancréatite aiguë (PA) ou une PA récurrente. Actuellement, les facteurs qui favorisent la survenue d'une PA ou chronique au cours de la mucoviscidose sont toutefois largement méconnus. L'objectif de ce travail est d'identifier ces facteurs. 49 adultes atteints de mucoviscidose (24 femmes et 25 hommes) présentant deux mutations identifiées dans le gène CFTR, suffisants pancréatiques, ont été inclus à ce jour. 29 patients n'ont pas présenté d'épisodes de PA et 20 patients ont présenté au moins un épisode de PA. Parmi les 20 patients n'ayant pas présenté d'épisodes de PA, 19 étaient des femmes, alors que parmi les 20 patients ayant présenté un épisode de PA, uniquement 5 étaient des femmes (Chi-square=6,24 ; p=0.01). Des patients présentant un même génotype CFTR peuvent présenter ou non des épisodes de PA suggérant que des facteurs autres que le génotype CFTR conditionnent la survenue d'une pancréatite. Nous avons ainsi analysé par séquençage nouvelle génération 5 gènes impliqués dans les pancréatites (PRSS1, PRSS2, SPINK1, CTRC, CASR) et 3 gènes impliqués dans le transport ionique dans les canaux pancréatiques (SLC26A6, SLC26A9, SLC9A1, SLC9A3). A ce jour, des mutations faux-sens ont été identifiées chez 4 patients (4/29, 13.8%) n'ayant pas présenté d'épisodes de PA et 5 patients (5/20, 25%) ayant présenté de très nombreux épisodes de PA. L'étude se poursuit actuellement afin d'augmenter l'effectif des patients et de confirmer nos premières observations.

**Mots-clefs :** Mucoviscidose, Pancréatite, séquençage nouvelle génération

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D145/#515

### Réhabilitation prothétique d'un patient atteint de dentinogénèse imparfaite

Marie-Paule GELLE (1), Dominique GAILLARD (2), Jean-Louis COEURIOT (1)  
1. Pôle Odontologie, CHU, Reims, Reims, France  
2. Service de génétique et biologie de la reproduction, CHU, Reims, Reims, France

**Auteur correspondant :** GELLE Marie-Paule (gelle.mariepaule@neuf.fr)

Mr T. G s'est présenté en consultation génétique dentaire du CHU de Reims en 2009.

Cliniquement, le patient présentait une forte abrasion de l'ensemble de la denture, plus particulièrement au niveau des premières molaires. La dentine apparaissait de couleur jaune-orange. L'examen radiographique mettait en évidence une forme globuleuse des couronnes « en battant de cloche » et des racines courtes aux apex arrondis. Si aucune lésion carieuse ni de lésion péri apicale n'étaient observées, il était à noter que l'ensemble des dents présentaient une oblitération pulpaire caractéristique de la dentinogénèse imparfaite de type II

L'étude génétique a déterminé une mutation du gène de la DSPP situé sur le bras long du chromosome 4. La mutation observée est de type transversion, sur le premier nucléotide du codon 18 de l'exon 3 (c.52G>T).

La réhabilitation thérapeutique a consisté en la réalisation de prothèses fixées plurales et unitaires après avulsion des premières molaires et dents de sagesse maxillaires et mandibulaires.

Lors de la première phase prothétique, des bridges postérieurs provisoires ont été réalisés afin de rétablir la dimension d'occlusion verticale en relation centrée (ORC) et valider le concept occlusal mais aussi pour tester la rétention des éléments prothétiques. Etant donné l'impossibilité de réaliser des ancrages canalaires, la décision fut prise d'élaborer des endo-couronnes.

Après validation de ces brides provisoires pendant une durée de 3 mois, des bridges métallo-céramiques ont été réalisés dans les secteurs postérieurs et des couronnes unitaires dans le secteur antérieur. Cette réhabilitation prothétique donne satisfaction tant sur le plan esthétique et fonctionnelle depuis 2 ans.

**Mots-clefs :** dentinogénèse imparfaite, prothèse, endo-couronnes

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D146/#525

### Interprétation des variants de TCF4 par étude de l'épissage dans le Syndrome Pitt -Hopkins

Mayssa Nasser (1), Loïc Drévilion (1), Audrey Briand-Suleau (2), Jamal Ghoumid (3), Thierry Gaillon (4), Virginie Bodereau (4), Laurent Pasquier (5), Jeanne Amiel (6), Michel Goossens (1), Delphine Héron (7), Irina Giurgea (8)

1. Service de Biochimie et Génétique, INSERM U955, Equipe 11, Université Paris-Est, AP-HP, Groupe hospitalier Henri -Mondor, Créteil, France
2. Service de Biochimie et Génétique, INSERM U955, Equipe 11, and Université Paris- Est, AP-HP, Groupe hospitalier Henri -Mondor, Créteil, France
3. Service de Biochimie et Génétique, INSERM U955, Equipe 11, Université Paris- Est, AP-HP, Groupe hospitalier Henri-Mondor, Créteil, France
4. Service de Biochimie et Génétique, AP-HP, Groupe hospitalier Henri -Mondor, Créteil, France
5. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
6. Service de Génétique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
7. Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
8. Service de Biochimie et Génétique, INSERM U955, Equipe 11, Université Paris-Est, AP-HP, Groupe hospitalier Henri -Mondor,, Créteil, France

**Auteur correspondant :** Giurgea Irina (irina.giurgea@inserm.fr)

Le syndrome de Pitt- Hopkins (PTHS) associe une déficience intellectuelle sévère, des troubles de la ventilation, des stéréotypies et un faciès particulier. Le gène responsable, TCF4 (Transcription Factor 4) code un facteur de transcription à domaine bHLH (basic helix-loop-helix) appartenant à la famille des E-protéines. Les patients portent à l'état hétérozygote, le plus souvent de novo, des délétions emportant tout ou une partie du gène TCF4, ou des mutations tronquantes ou faux-sens généralement localisées dans le domaine bHLH. La grande majorité des mutations sont privées et seulement cinq mutations récurrentes ont été décrites. Depuis l'identification de ses bases moléculaires en 2007, PTHS est devenu un syndrome bien reconnaissable cliniquement. Le séquençage de nouvelle génération a permis l'identification de quelques mutations TCF4 dans des formes frustes de ce syndrome. Si l'interprétation des mutations tronquantes est aisée, celle des variations de séquence sans effet évident sur l'altération de la fonction protéique reste difficile.

Afin de faciliter l'interprétation des variants de signification inconnue, nous proposons une méthode d'étude des anomalies d'épissage de TCF4 par l'analyse des ARNm extrait de leucocytes des patients et à l'aide d'un système de minigène in vitro. Utilisant cette approche nous avons étudié trois variations de séquence de novo de TCF4, une synonyme c.1071A>G, p.(Ala357Ala) identifiée récemment chez un patient avec PTHS typique, et deux mutations faux-sens situées en dehors du domaine bHLH, c.1073G>T, p.(Gly358Val) et c.1604A>G, p.(Asp535Gly) précédemment décrites chez des patients avec un PTHS typique. Plusieurs équipes ont réalisé des études fonctionnelles in vitro de ces protéines mutantes (Gly358Val et Asp535Gly) et n'ont pas identifié d'effet délétère.

L'analyse de l'ARNm de TCF4 nous a permis de mettre en évidence un saut d'exon total ou partiel pour les trois variants étudiés. Cet épissage défectueux est responsable d'un décalage du cadre de lecture et de la création de codons stop prématurés (c.1071A>G, p.Gly358LysfsX4; c.1073G>T, p.Gly358LysfsX4 and c.1604A>G, p.Asp535AlafsX8).

En conclusion, nous démontrons que trois mutations ont un effet délétère sur l'épissage de l'ARNm de TCF4 : une variation de séquence « synonyme » et deux « mutations faux-sens ». Ces dernières sont les seules mutations faux-sens situées en dehors du domaine b-HLH décrites à ce jour. Ainsi, l'interprétation des variations de séquence sans effet délétère prédictible sur le fonctionnement protéique doit être prudente, et un test d'épissage est recommandé lorsque ces variations surviennent de novo.

**Mots-clefs :** Syndrome Pitt -Hopkins, TCF4, Déficience intellectuelle

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D147/#528

### Identification de mutations de l'ADN mitochondrial chez des patients atteints de diabète mitochondrial

faiza fakhfakh (1), Najla Mezghani (2), Mkaouar Emna (3), Nadia Charfi (4), Mouna Mnif (5), mohamed Abid (4)

1. laboratoire de génétique moléculaire humaine, faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
2. laboratoire de génétique moléculaire humaine, faculté de médecine, Sfax, Tunisie
3. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
4. service d'endocrinologie, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
5. Service d'endocrinologie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

**Auteur correspondant :** Fakhfakh faiza (faiza.fakhfakh@gmail.com)

Le diabète mitochondrial (DM) est une atteinte hétérogène, caractérisée par un déficit de la chaîne respiratoire qui se répercute sur la fonction de sécrétion d'insuline par les cellules bêta du pancréas. Plusieurs mutations dans des gènes mitochondriaux ont été associées au diabète mitochondrial et en particulier des mutations dans des gènes d'ARNt, d'ARNr mitochondriaux ou des gènes codant des protéines mitochondriales

Nous nous sommes intéressés lors de cette étude à la recherche de mutations dans des gènes mitochondriaux, en particuliers les gènes d'ARNtLeu (UUR), d'ARNtGlu et d'ARNr 12s chez des patients atteints de diabète mitochondrial ou de diabète mitochondrial associé à d'autres affections. La recherche des mutations a été réalisée par séquençage et par PCR-RFLP. De plus une recherche de délétion de l'ADNmt a été effectuée par PCR long Range.

Les résultats ont montré l'absence de la mutation m.3243A>G du gène de l'ARNtLeu(UUR) chez les patients testés. Cependant, ces résultats ont révélé la présence de la mutation m.14709T>C du gène de l'ARNtGlu mitochondrial à l'état hétéroplasmique et pour la quelle les taux de l'hétéroplasmie sont en corrélation avec la sévérité dans certains cas. De plus, les résultats ont montré la présence de la mutation A1555G de l'ARNr 12s dans le muscle et leucocyte d'un patient présentant en plus du diabète, une surdité. Ce dernier a montré aussi la présence de délétions multiples de l'ADN mitochondrial.

**Mots-cléfs :** ADN mitochondrial, Diabète mitochondrial, mutation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D148/#531

### Nouvelle mutation marocaine de la cystinose et revue de littérature

Ghizlane Jabrane (1), Hind Dehbi (1), Anna Taranta (2), Sanaa Nasserredine (1), Nadia Serbati (1), Sellama Nadiff (1)

1. Laboratoire de génétique et pathologie moléculaire, CHU Ibn Rochd, Casablanca
2. Département de néphrologie et d'urologie, Bambino Gesù Children's Hospital IRCCS, Rome, Italie

**Auteur correspondant :** Jabrane Ghizlane (ghizlane.jabrane@gmail.com)

La cystinose est une maladie métabolique rare, liée à l'accumulation de la cystine dans les lysosomes de la plupart des cellules de l'organisme. Sa prévalence est estimée à 1/200 000. Trois formes cliniques de cystinose (infantile, juvénile et adulte) ont été décrites en fonction de l'âge d'apparition et de la sévérité des symptômes. Le pronostic de la maladie s'est amélioré avec l'apparition de la cystéamine, médicament qui permet de diminuer le contenu intracellulaire en cystine. C'est une maladie héréditaire de transmission autosomique récessive. Le gène en cause, CTNS, code pour une protéine de membrane lysosomale, la cystinosine. Environ 80 mutations différentes ont été décrites, la plus fréquente de ces mutations est une délétion de 57 kb qui est détectée chez 60 à 70% des patients en Europe du Nord.

Dans ce travail, nous rapportons une nouvelle mutation dans le gène CTNS, et à notre connaissance, non encore décrite au Maroc. Il s'agit d'une mutation ponctuelle (c.922G>A) d'une famille marocaine ayant la cystinose infantile révélée par un syndrome polyuro-polydipsique et un retard de croissance staturopondéral avec hépato-splénomégalie sans hypertension.

**Mots-cléfs :** cystinose, gène CTNS, syndrome polyuro-polydipsique



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D149/#534

### Syndrome de l'X fragile : transmission maternelle d'une mutation complète méthylée avec réversion vers un allèle normal

Sophie Blesson (1), Mélanie Jimenez (1), Nathalie Pasquier (1), Marie-Pierre Moizard (2), Nathalie Ronce (2), Sandrine Vonwill (2), Valérie Biancalana (3), Martine Raynaud (2)

1. Service de Génétique, CHRU de Tours, Tours, France
2. Service de Génétique et INSERMU930, CHRU de Tours, Tours, France
3. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Raynaud Martine (m.raynaud@chu-tours.fr)

Le syndrome de l'X fragile est dû à une expansion instable de triplets nucléotidiques CGG dans la région 5' non traduite du gène FMR1. En fonction du nombre de répétitions, on peut décrire un allèle normal et stable (entre 6 et 49 CGG), un allèle en zone intermédiaire ou « zone grise » (entre 50 et 54 CGG), une prémutation (entre 55 et 200 CGG), et une mutation complète (au delà de 200 CGG).

Seules les mutations complètes s'accompagnent d'une méthylation anormale et des signes caractéristiques du syndrome de l'X fragile chez les hommes.

La transmission maternelle des expansions instables en zone intermédiaire et des prémutations augmente en général le nombre de répétitions ; la régression du nombre de triplets vers une prémutation plus petite ou vers un allèle normal a été décrite dans un petit nombre de cas (37 cas, dont 10 réversions en allèle normal, d'après une revue récente de la littérature - Alfaro et al., 2013, *Am J Med Genet* 161:2620-2625).

Les mutations complètes sont transmises par les femmes sous forme de mutation complète dans 99% des cas ; la contraction dans une partie des cellules donne lieu à des mosaïques : mutation complète et prémutation, ou bien mutation complète et allèle normal, ou encore mutation complète et délétion. De très rares cas de contraction homogène ont été rapportés : en allèle prémuté (Rousseau et al, 1991, *N Eng J Med*), en allèle en zone intermédiaire ou en allèle normal (Malzac et al, 1996, *Am J Med Genet*), ou encore en allèle délété incluant la région (CGG)<sub>n</sub> (Hammond et al, 1997, *Am J Med Genet*).

Dans le cadre d'une enquête familiale, nous avons mis en évidence une contraction de l'amplification CGG, une mutation complète méthylée ayant été transmise par une femme sous forme d'un allèle comportant 31 triplets et 2 petites délétions en 5', sans mosaïcisme détectable, à un de ses fils qui est sain. L'étude d'un deuxième tissu (culture de fibroblastes obtenue à partir d'une biopsie de peau) montre le même résultat. Ce type de transmission est peut-être méconnu car les garçons sains ne sont habituellement pas étudiés dans ces situations. Nous discutons ce résultat dans le contexte du conseil génétique.

**Mots-clefs :** Syndrome de l'X fragile, mutation complète méthylée, contraction de répétition CGG

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D150/#537

### Du phénotype au génotype: l'association « syndromes de Kallmann et de Moebius » est spécifique de la substitution E410K de la tubuline bêta 3.

Mélanie Amouyal (1), Patrice Bouvagnet (2), Nicolas de Roux (1)

1. INSERM U676, Université Paris Diderot et laboratoire de biochimie hormonale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Laboratoire Cardiogénétique, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, EA4173, Université Lyon 1 et Hôpitaux du Nord-Ouest, Lyon, France

**Auteur correspondant :** amouyal melanie (melanieamouyal@yahoo.fr)

Parmi les 6000 maladies monogéniques connues, seules quelques-unes, telles que la drépanocytose et l'achondroplasie, sont dues à une mutation unique. La conséquence fonctionnelle de cette mutation unique sur l'activité de la protéine explique généralement le phénotype. Récemment, un nouvel exemple de mutation unique a été décrit dans le gène codant pour la tubuline bêta 3 (TUBB3) pour expliquer l'association inattendue du syndrome de Moebius (SM) avec le syndrome de Kallmann (SK). Le SM correspond à une paralysie congénitale des muscles des yeux et du visage et peut être dû à des mutations de TUBB3. Le SK associe un hypogonadisme hypogonadotrope et une anosmie. Il est dû à des mutations perte de fonction dans de nombreux gènes qui codent des protéines participant au développement du bulbe olfactif. La fréquence du SM est de 1/50000 à 1/500000 alors que celle du SK diffère selon le sexe, 1/8000 pour les garçons et 1/40000 pour les filles. L'association de ces deux syndromes chez un même patient est tout à fait exceptionnelle. Nous rapportons ici un nouveau cas qui confirme que l'association SM/SK est due à la mutation E410K de TUBB3.

Le diagnostic du SM a été fait à l'âge d'un mois chez un garçon devant la constatation d'une paralysie faciale, d'un micro-rétrognathisme et de difficultés de succion. Le diagnostic a été confirmé par un électromyogramme des muscles de la face. Un hypogonadisme par déficit gonadotrope a été évoqué devant un micropénis et une cryptorchidie unilatérale à la naissance. Il a été confirmé à l'âge de 3 mois devant une testostérone basse et des gonadotrophines LH et FSH basses associées à un test au LHRH négatif. Les autres axes hypophysaires étaient normaux. La suite a été marquée par un retard psychomoteur, l'apparition d'une épilepsie, un retard staturo-pondéral et un impubérisme à l'adolescence, nécessitant un traitement. Une anosmie a été objectivée.

Devant l'association SM/SK, la mutation c.1228G>A dans l'exon 4 du gène TUBB3 responsable de la substitution E410K, a été recherchée en première intention par séquençage. Les résultats montrent que le propositus est hétérozygote pour cette mutation alors que sa mère et ses 2 sœurs ne sont pas mutées. Une cGH n'a pas mis en évidence d'autre anomalie.

L'association SM/SK est donc due à une mutation unique de TUBB3. Par ailleurs, ces résultats montrent que la substitution E410K dans la tubuline bêta 3 empêche le développement normal des neurones du bulbe olfactif. Cette substitution E410K modifie probablement des interactions protéines-protéines indispensables au développement des neurones du bulbe olfactif et à la migration des neurones GnRH vers l'hypothalamus, en plus du défaut de développement du 7ème nerf crânien responsable de la paralysie des muscles oculo-moteurs dans le SM.

**Mots-clefs :** syndrome de Moebius, syndrome de Kallmann, TUBB3

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D151/#540

### Syndrome de Floating Harbor : étude clinique et moléculaire de 19 patients

CARINE LE GOFF (1), D Darneau (2), C. Sepulveda (2), C. Mahaut (2), A. Afenjar (3), A. Bottani (4), K Devriendt (5), B. Doray (6), S. El Chenadeh (7), E. Flori (8), A. Goldenberg (9), B. Gilbert-Dussardier (10), A. Jaquinet (11), S. Kuzbari (12), S. Lyonnet (2), M. Mathieu-Dramard (13), D. Martin-Coignard (14), A. Moncla (15), S. Odent (16), C. Quelin (17), M. Rio (2), P. Nitschke (18), A. Munnich (2), L. Faivre (19), V. Cormier-Daire (2)

1. INSERM U781, Department of Genetics, , Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine,, Hôpital Necker, , Paris, France
2. INSERM U781, Department of Genetics, , Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine,, Hôpital Necker, Paris, France
3. Service de neuropédiatrie, centre de référence anomalies du développement, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Service de Médecine génétique,, Hôpitaux Universitaires de Genève,, Genève, Suisse
5. Center for Human Genetics,, Catholic University of Leuven,, Leuven, Belgique
6. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs,, CHU Dijon, Dijon, France
8. Département de Génétique,, Hôpital de Haute-pierre,, Strasbourg, France
9. Département de Génétique Médicale, centre Hospitalier Universitaire de Rouen,, Rouen, France
10. service de génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
11. Centre de génétique, CHU Liège, Liège, France
12. Département de génétique,, Hôpital Robert Debré, , Paris, France
13. Service de génétique clinique,, CHU AMIENS, AMIENS, France
14. Laboratoire de génétique,, centre hospitalier du Mans, Le Mans, France
15. Département de Génétique Médicale de Marseille, Hôpital Timone-enfants,, Marseille, France
16. Service de Génétique Clinique,, CHU Hôpital Sud ,, Rennes,, France
17. Service de Génétique Clinique,, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
18. 16Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes, Paris, France
19. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs,, CHU Dijon et Université de Bourgogne, Dijon, France

**Auteur correspondant :** Cormier-Daire Valérie (valerie.cormier-daire@inserm.fr)

Le syndrome de Floating-Harbor (OMIM 136140, FH) est une maladie rare caractérisée par un retard statural et d'âge osseux, un retard d'acquisition du langage et une dysmorphie faciale. Les caractéristiques faciales incluent un visage triangulaire, un nez large et bulbueux avec une arête nasale large, une columelle large, des yeux enfoncés, de longs cils, une grande bouche avec des lèvres fines, et un philtrum court et lisse. La dysmorphie faciale des patients FH évolue avec l'âge. Dans la littérature, la plupart des cas rapportés sont sporadiques, suggérant un mode de transmission autosomique dominant.

En 2012, Hood et al ont identifié des mutations dans le gène SRCAP (SNF2-related CBP activator protein) chez 5 individus FH. Simultanément, utilisant une stratégie de séquençage par exome, nous avons identifié des mutations hétérozygotes (1 non sens, 1 frameshift) dans le gène SRCAP dans deux cas FH. Par séquençage Sanger, nous avons identifié des mutations tronquantes (3 non sens et 3 frameshifts) chez 6 patients additionnels au sein d'une série de 9 patients testés. Toutes les mutations étaient de novo, responsables de l'apparition prématurée d'un codon stop et localisées uniquement dans l'exon 34 du gène SRCAP. Ce dernier code pour une protéine activatrice « SNF2 related CREBBP » qui est composée d'un domaine HAS (helicase -SANT associated domain) en N terminal, un domaine ATPase, un domaine de liaison CPB et trois "crochets" AT en C terminal. Toutes les mutations sont responsables d'une perte des motifs de liaison à l'ADN, les "crochets" AT suggérant un rôle important de ces motifs dans la fonction de SRCAP.

Depuis ces premiers travaux, nous avons analysé 10 nouveaux cas FH. Nos critères d'inclusion étaient le retard statural (<-2 DS), le retard d'âge osseux, le retard du langage et une dysmorphie faciale

caractérisée par un visage triangulaire et une columelle large saillante. Nous avons ainsi identifié 2 nouveaux cas avec une mutation dans l'exon 34 de SRCAP. Le gène a été exclu dans 4 autres familles. Le séquençage de SRCAP est en cours dans 4 autres familles.

Tous les patients FH avec une mutation SRCAP ont une dysmorphie faciale caractéristique. L'absence de mutations dans le gène SRCAP chez 7/19 patients suggère l'existence d'un syndrome proche du FH, dont l'analyse clinique fine est en cours.

**Mots-clés :** Floating harbor, SRCAP, étude clinique et moléculaire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D152/#541

### Présentation d'une famille avec une très grande variabilité phénotypique de myopathie de Bethlem : un nouveau cas de digénisme ?

Alix de Becdelièvre (1), Isabelle Rouvet (2), Valérie Allamand (3), Céline Ledeuil (1), Nathalie Streichenberger (4), Marie-Thérèse Zabot (5), Sylvie Lorthois-Ninou (6), Capucine de Latre (7), Tanya Stojkovic (8), Véronique Manel (9), Pascale Richard (1)

1. APHP, UF de Cardiogénétique et Myogénétique, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière Charles Foix, Paris, France
2. Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
3. Inserm U974, UPMC UM76, CNRS UMR7215, Institut de Myologie, PARIS, France
4. Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
5. Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Service d'imagerie, Groupement Hospitalier Est, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
7. Centre de références maladies neuromusculaires, Cs de MPR, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
8. AP-HP, Institut de Myologie, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière Charles Foix, Paris, France
9. Centre de références maladies neuromusculaire et suivi, Neuropédiatrie, Hôpital Femme Mère-Enfant- Hospices civils de Lyon, Lyon, France

**Auteur correspondant :** de Becdelièvre Alix (alix.de-becdelievre@psl.aphp.fr)

Les myopathies liées au collagène VI (COLVI) couvrent un large spectre phénotypique, de la forme très grave de dystrophie musculaire d'Ullrich à la myopathie de Bethlem généralement plus modérée, avec une grande variabilité inter et intra-familiale de la sévérité de l'atteinte. Elles sont causées par des mutations dans l'un des 3 gènes codant les chaînes alpha (1-3) du COLVI : COL6A1, COL6A2 et COL6A3. La transmission est majoritairement dominante, mais peut aussi être récessive. Devant une présentation clinique compatible, la stratégie diagnostique consiste à réaliser une IRM musculaire, étudier la sécrétion du COLVI par des fibroblastes en culture du patient, et en cas d'anomalie à rechercher la ou les mutation(s) responsables par analyse des ARNm COL6A1, COL6A2 et COL6A3.

Nous avons identifié chez une patiente présentant une forme classique de myopathie de Bethlem deux mutations dans deux gènes différents, prédites toutes deux comme pathogènes par les outils bioinformatiques : la mutation p.Gly547del dans le domaine triple hélice (THD) de la chaîne alpha1(VI) d'origine paternelle, et la mutation p.Arg2811Pro dans la chaîne alpha3(VI) d'origine maternelle. La mutation p.Gly547del (alpha1) était également portée par la sœur de la patiente à l'état hétérozygote. Habituellement, les mutations faux-sens affectant les glycines du domaine THD sont des néomutations dominantes, rencontrées dans des formes sévères de myopathie d'Ullrich. C'est la 1ère fois que nous identifions une délétion de glycine du domaine THD sans expressivité marquée à l'état hétérozygote. L'examen clinique ne retrouve aucune symptomatologie musculaire chez la mère, mais une raideur isolée chez le père et la sœur. L'IRM des membres inférieurs montrent des anomalies

caractéristiques chez la patiente, et aucune anomalie au niveau des cuisses et des mollets chez les autres membres de la famille. La sécrétion du COLVI par les fibroblastes cutanés était réduite chez la patiente, ainsi que chez son père et sa sœur, et normale chez sa mère.

Des mutations récessives sont décrites dans les myopathies liées au COLVI, mais impliquant habituellement le même gène. Il est cependant vraisemblable que 2 mutations altérant deux chaînes différentes du COLVI aient un effet délétère additif sur son assemblage et sa sécrétion. Chez le cas index, il est probable que l'association avec la mutation d'origine maternelle contribue largement à la grande différence d'atteinte entre les différents porteurs de la mutation p.Gly547del (alpha1) dans cette famille, même si des mutations identiques ont déjà été rapportées comme responsables de phénotypes variables.

Cette observation familiale montre l'importance de l'approche pluridisciplinaire (étude phénotypique, IRM, étude de la sécrétion COLVI) dans l'approche diagnostique des myopathies liées au collagène VI. Cela souligne aussi l'importance de l'étude familiale dans certains cas afin de d'optimiser le conseil génétique.

**Mots-clefs :** Bethlem, collagène VI, digénisme

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D153/#543

### Spectre phénotypique de l'ataxie cérébelleuse autosomique récessive type 2 (mutations du gène ADCK3)

Cyril Mignot (1,2,3,4), Emmanuelle Apartis (5,6,7), Alexandra Durr (1,6,7,8), Charles Marques Lourenço (9), Perrine Charles (1,3,4), David Devos (10), Caroline Moreau (11), Pascale de Lonlay (12), Nathalie Drouot (13), Lydie Burglen (14,15), Nadine Kempf (16), Elsa Nourisson (16), Sandra Chantot-Bastarud (14), Anne-Sophie Lebre (17), Marlène Rio (18), Yves Chaix (19), Eric Bieth (20), Emmanuel Roze (6,21), Isabelle Bonnet (22), Sandrine Canaple (23), Coralie Rastel (1,3), Alexis Brice (1,6,7,8), Agnès Rötig (24), Isabelle Desguerre (25), Christine Tranchant (13,26,27), Michel Koenig (13,16), Mathieu Anheim (1,13,26,27)

1. AP-HP, Hôpital de la Salpêtrière, Department of Genetics and Cytogenetics, F-75013, Paris, France
2. APHP, Hôpital Armand Trousseau, Service de Neurologie Pédiatrique, Paris, France
3. Centre de Référence des Déficiences Intellectuelles de Causes Rares
4. UPMC Univ Paris 06, Groupe de Recherche Clinique (GRC) 'déficiency intellectuelle et autisme', Paris, France
5. APHP, Saint-Antoine Hospital, Department of Physiology, Paris, France
6. Inserm, UMR\_S975, CRICM, Team Molecular Bases, Physiopathology and Treatment of Neurodegenerative Disorders, F-75013, Paris, France
7. UPMC Univ Paris 06, UMR\_S975, F-75013, Paris, France
8. CNRS UMR 7225, F-75013, Paris, France
9. Department of Neuroscience and Behaviour Sciences, School of Medicine of Ribeirão Preto, University of Sao Polo, Sao Polo, Brazil
10. Department of Medical Pharmacology & Department of Movement Disorders and Neurology, EA 4559/1046, Lille Nord de France University, CHU Lille, Lille, France
11. Department of Movement Disorders and Neurology, EA 4559/1046, Lille Nord de France University, CHU Lille, Lille, France
12. Inserm U781, Imagine Institut des Maladies Génétiques, Université Paris Descartes et Centre de Référence des Maladies Héritaires du Métabolisme, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France
13. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), INSERM-U964/CNRS-UMR7104/Université de Strasbourg, 67404 Illkirch, France
14. AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Service de Génétique et d'Embryologie Médicale
15. Centre de Référence des malformations et maladies congénitales du cerveau, Paris, France
16. Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Nouvel Hôpital Civil, Laboratoire de Diagnostic Génétique, Strasbourg, France

17. Université Paris Descartes; INSERM U781; Assistance Publique-Hôpitaux de Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, 75015 Paris ; France
18. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, France
19. Unité de Neurologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants, Toulouse, France; INSERM U825, Hôpital de Purpan Toulouse, France
20. Service de Génétique, Hôpital Purpan, Toulouse, France
21. AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Département de Neurologie, Paris, France
22. Cabinet de Neurologie, Amiens
23. Service de Neurologie, CHU Amiens, 80054 Amiens Cedex, France; Laboratoire de Neurosciences Fonctionnelles et Pathologies EA4559
24. Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine and INSERM U781
25. APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Service de Neurologie Pédiatrique
26. Département de Neurologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Haute-pierre, 67098 Strasbourg cedex, France
27. Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg (FMTS), Université de Strasbourg (UdS), Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Mignot Cyril (cyril\_mignot@hotmail.com)

L'ataxie cérébelleuse autosomique récessive de type 2 (ARCA2) est due à des mutations bi-alléliques du gène ADCK3 entraînant un déficit en co-enzyme Q10 (ubiquinone). Le phénotype des 21 patients rapportés jusqu'ici varie considérablement d'un patient à l'autre, ce qui le rend difficile à définir. Nous rapportons il y a deux ans le phénotype de quelques patients français et décrivons cette année les aspects phénotypiques, thérapeutiques et moléculaires de la maladie chez 14 patients, y compris 4 patients français déjà décrits dont l'histoire a été mise à jour.

Les premiers signes sont apparus avant l'âge adulte chez tous les patients. L'atrophie cérébelleuse était présente chez tous également. Une patiente avait un tableau d'encéphalopathie dégénérative gravissime avant l'âge de deux ans et n'a jamais marché. Chez les 13 autres patients, la progressivité et la sévérité du syndrome cérébelleux variait grandement d'un patient à l'autre mais aucun n'avait perdu la marche dans les décennies suivant le début de la maladie. Le syndrome cérébelleux était associé à d'autres signes neurologiques (épilepsie, mouvements anormaux, signes pyramidaux, déficience intellectuelle) chez 12 d'entre eux. Un "stroke-like" est survenu chez deux patients, entraînant une dégradation significative de leur état. Les signes neurologiques et l'enregistrement polymyographique de deux patients traités par ubidecarenone (complément d'ubiquinone) se sont améliorés sous traitement. Les sept nouvelles mutations identifiées étaient deux non-sens, cinq mutations tronquantes, y compris une délétion intragénique. Aucune corrélation phénotype/génotype n'a été identifiée.

Cette série confirme que le spectre phénotypique d'ARCA2 comprend, à une extrémité, une forme pure d'ataxie cérébelleuse d'évolution très lente, sinon stable, et, à l'autre extrémité, une encéphalopathie dégénérative sévère du nourrisson. Cependant, la majorité des patients ont un phénotype intermédiaire associant une ataxie peu évolutive et d'autres manifestations neurologiques dont la plus grave est le stroke-like. Nous suggérons de pratiquer l'étude du gène ADCK3 chez les patients ayant ce phénotype évocateur. Le diagnostic des patients sévères sera plus volontiers suggéré par la mise en évidence d'un déficit en co-enzyme Q10. De façon complémentaire, la connaissance du spectre clinique aidera à l'interprétation des données moléculaires de criblage multigénique (panel dédié, exome, etc). L'établissement du diagnostic est d'autant plus important qu'il a des implications thérapeutiques potentielles.

**Mots-clefs :** ataxie, autosomique récessive, déficit en ubiquinone

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D154/#545

### Corrélation entre le développement d'inhibiteur et les mutations du gène du F8 responsable de l'hémophilie A dans la population Ouest Algérienne

MERIEM ABDI (1), MOHAMED BELAZAAR (2), ABDALLAH BOUDJEMA (1), MOSTEFA FODIL (1), MALIKA MEHALHAL (3), NAÏMA MESLI (4), HADJ TOUHAMI (5), FAOUZIA ZEMANI-FODIL (6), Khadidja Moulay Serdoune (7), Yasmina RAHAL (7)

1. Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire., Université des Sciences et de la Technologie d'Oran -Mohamed Boudiaf-ALGERIE, Oran, Algérie
2. Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire de Sidi Bel Abbès, Sidi Bel Abbès, Algérie
3. Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire de Mascara, Mascara., Algérie
4. Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen., Tlemcen, Algérie
5. Service d'hématologie, Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire d'Oran, Oran, Algérie
6. Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran -Mohamed Boudiaf-ALGERIE, Oran, Algérie
7. Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire d'Oran, oran, Algérie

**Auteur correspondant :** ABDI MERIEM (meriem.rym.abdi@gmail.com)

L'hémophilie A (HA) est une maladie hémorragique transmise selon le mode récessive liée à l'X. Le développement d'inhibiteur anti-facteur VIII représente la plus grave complication du traitement chez les patients HA. Ces inhibiteurs se produisent dans environ 30% chez les patients sévèrement atteints à la suite d'un processus complexe impliquant des facteurs génétiques et environnementaux multiples. L'un des plus importants prédictors du risque de développement d'inhibiteurs dans l'HA est le type de mutation au niveau du gène du facteur 8. Notre objectif était, dans un premier temps, de détecter la présence d'inhibiteur dans un groupe de 24 patients hémophiles originaires de l'Ouest Algérien. Nous avons ensuite recherché les mutations du gène du facteur 8 chez ces patients. Le titrage des inhibiteurs anti-FVIII a été réalisé selon le protocole de Bethesda/Nijmegen. Les micro-inversions de l'intron 22 et 1 ont été respectivement détectées par PCR Longue Rang et PCR Multiplex. Les patients négatifs pour ces deux micro-inversions ont été analysés à l'aide d'un séquençage direct. En plus des deux types de micro-inversions, nous avons retrouvé des mutations de type nonsense, missense, une mutation au niveau d'un site donneur d'épissage ainsi qu'un polymorphisme. Concernant le développement des inhibiteurs anti-facteur VIII, nos résultats sont en corrélation avec ce qui a été rapporté dans la littérature. En Effet, nous avons constaté que seule les mutations causant l'absence totale de protéines (la micro-inversion de l'intron 22 et les mutations nonsense) sont associées au risque de développement des inhibiteurs. De plus, nous avons remarqué que les mutations de type nonsense sont associées à un risque plus élevé au développement des inhibiteurs par rapport à celui de la micro-inversion de l'intron 22. Cette étude devra s'étendre sur un échantillon plus large afin de mieux définir le profil génétique propre de notre population.

**Mots-clefs :** Hémophilie A, Facteur 8, Inhibiteur

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D155/#548

### Délétion d'UBE2A impliquée dans une forme syndromique de RMLX : A propos d'un cas et revue de la littérature

Anaïs Leroy (1), Joris Andrieux (2), Sophie Lucidarme (3), Sylvie Manouvrier (4), Catherine Vincent-Delorme (5)

1. Service de Génétique Médicale Guy Fontaine. CLAD Nord de France, Hopital Jeanne de Flandre CHRU Lille, Lille, France
2. Institut de Génétique Médicale. Plateforme de Puces ADN, Hopital Jeanne de Flandre CHRU Lille, Lille, France
3. Service de Néonatalogie, CH Arras, Arras, France
4. Service de Génétique Médicale Guy Fontaine. CLAD Nord de France, Hôpital Jeanne de Flandre. CHRU Lille, Lille, France
5. Service de Génétique Médicale Guy Fontaine. Cs de Génétique Ch Arras.CLAD Nord de France, Hôpital Jeanne de Flandre CHRU Lille . CH Arras, Lille. Arras, France

**Auteur correspondant :** Vincent-Delorme Catherine (catherine.vincent-delorme@ch-arras.fr)

Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de 5 mois présentant un retard des acquisitions, avec hypotonie, associé à un morphotype particulier comportant des traits grossiers, un important œdème des extrémités, un hirsutisme et une verge enfouie.

Les examens complémentaires retrouvaient un méga-uretère, de diagnostic anténatal connu, et montraient une discrète hypoplasie de la branche pulmonaire gauche, un corps calleux fin, une hypoplasie des phalanges distales des orteils, sans anomalie à l'EEG. L'analyse pangénomique par CGH array 60k, confirmée par Q-PCR, décelait une délétion de 60-113 kb en Xq24 emportant UBE2A, NKRF, et SEPT6, de transmission maternelle, avec un biais complet d'inactivation de l'X. Des mutations pathogènes d'UBE2A ont été rapportées dès 2006; depuis 2010 quelques délétions de petite taille, englobant ce gène ont été identifiées, représentant au total 22 garçons vivants atteints dont 10 formes familiales (3 mutations, 7 délétions) et une seule forme de novo. Dans tous les cas où il a pu être étudié, on note un biais complet d'inactivation de l'X chez les mères conductrices.

Cette nouvelle observation confirme le rôle important d'UBE2A, qui code pour une enzyme de conjugaison de l'ubiquitine, et intervient dans le maintien de la fonction neuronale; elle permet de décrire un phénotype cliniquement reconnaissable de RMLX syndromique.

**Mots-clefs :** Retard mental lié à l'X, UBE2A, Ubiquitylation



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D156/#550

### Le Séquençage Haut Débit, un outil de diagnostic moléculaire rapide : exemple d'un cas de Non Compaction du Ventricule Gauche avec identification de 2 mutations dans le gène MYBPC3.

Elise Schaefer (1), Pauline Helms (2), Luc Marcellin (3), Philippe Desprez (4), Philippe Billaud (5), Patrice Bouvagnet (6), Valérie Chavanat (6), Robert Rousson (6), Gilles Millat (6)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Haute-pierre, Strasbourg, France
2. Unité médico-chirurgicale de cardiopédiatrie, CHU Haute-pierre, Strasbourg, France
3. Service de Pathologie, CHU Haute-pierre, Strasbourg, France
4. Service de Réanimation Pédiatrique Spécialisée-Surveillance Continue, Pédiatrie 2, CHU Haute-pierre, Strasbourg, France
5. Service de Chirurgie Cardiaque, CHU Haute-pierre, Strasbourg, France
6. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Millat Gilles (gilles.millat@chu-lyon.fr)

La Non-compaction Ventriculaire gauche (NCVG) est une cardiomyopathie rare et potentiellement évolutive. Elle est définie par la présence de trabéculations ventriculaires myocardiques profondes et nombreuses séparées par des espaces intertrabéculaires communiquant avec la cavité ventriculaire. La NCVG est classée parmi les cardiomyopathies d'origine génétique. Il s'agit d'une entité hétérogène pouvant être isolée ou syndromique, sporadique ou familiale. Dans les formes isolées familiales, différents modes de transmission ont été décrits, principalement autosomique dominant et lié à l'X. La majorité des gènes identifiés codent des protéines du sarcomère (MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNT3, TPM1, ACTC1,...), gènes également impliqués dans la survenue des cardiomyopathies hypertrophiques (CMH) et dilatées (CMD). Plus rarement, des mutations dans d'autres gènes ont été rapportées tels que LMNA, DTNA, LDB3 et SCN5A, permettant d'étendre le spectre moléculaire de la NCVG. Cependant, pour la grande majorité des patients, aucune mutation n'est identifiée.

Nous rapportons l'observation d'une enfant, issue d'un couple non consanguin, décédée à 6 mois de vie d'une forme sévère de NCVG. L'enquête familiale retrouvait la notion d'une CMH chez la grand-mère paternelle diagnostiquée à l'âge de 18 ans. Une CMH a été également retrouvée chez son fils, le père de l'enfant, suite au dépistage échographique.

Du fait du continuum moléculaire entre la NCVG et la CMH, nous avons séquencé, chez l'enfant, 16 gènes responsables de CMH grâce à une technique de séquençage haut débit ciblée. Cette technique, réalisée en 3 jours, a permis d'identifier, parmi 45 variants, deux mutations dans le gène MYBPC3 (p.Lys505del, p.Pro955fs). Ces mutations avaient déjà été rapportées dans la littérature comme étant responsables de CMH. La mutation p.Pro955fs a été retrouvée chez le père porteur d'une CMH et la mutation p.Lys505del chez la mère asymptomatique. L'identification de la mutation dans la branche maternelle a conduit au diagnostic de CMH chez la grand-mère maternelle.

La présence de deux mutations dans le gène MYBPC3 à l'état homozygote ou hétérozygote composite a déjà été décrite dans la littérature à 6 reprises comme associée à des cardiomyopathies de présentation néonatale. Notre observation corrobore ces données. L'identification de mutations dans ces familles permet de proposer un dépistage et un suivi cardiologique approprié pour les apparentés. Elle permet également d'apporter un conseil génétique et d'envisager un diagnostic prénatal ou préimplantatoire pour une prochaine grossesse du fait de la forte mortalité et morbidité néonatale associée à ces génotypes.

**Mots-clefs :** Non Compaction Ventriculaire Gauche, Séquençage haut Débit, Gène MYBPC3

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D157/#553

### L'« expansion » mononucléotidique sur une répétition de 9 adénylates du gène ANO10 est une cause importante d'ataxie récessive ARCA3.

Michel Koenig (1), Mathilde Renaud (2), Mathieu Anheim (2), Erik Jan Kamsteeg (3), Martial Mallaret (2), Fanny Mochel (4), Sascha Vermeer (3), Nathalie Drouot (5), Jean Poujet (6), Claire Redin (5), Emmanuelle Salort-Campana (6), Hubertus Kremer (7), Corien Verschuuren-Bemelmans (8), Jean Muller (5), Hans Scheffer (3), Alexandra Durr (4), Christine Tranchant (2)

1. INSERM UMR\_S 827, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier, France
2. Service de Neurologie, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
3. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas
4. UMR-S975, Centre de recherche de l'institut du cerveau et de la moelle épinière, Paris, France
5. Département de médecine translationnelle et de neurogénétique, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France
6. Service de Neurologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France
7. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Centre, Nijmegen, France
8. Department of Neurology, Radboud University Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas

**Auteur correspondant :** Koenig Michel (michel.koenig@inserm.fr)

Nous avons identifié en 2009 le gène ANO10 comme étant responsable d'une nouvelle forme récessive d'ataxie isolée (ARCA3) de début relativement tardif (adolescent/adulte), à partir de l'analyse de 3 familles mutées. Nous avons depuis identifié 10 nouvelles familles avec mutations du gène ANO10. Dans 7 des 10 familles, les patients étaient hétérozygotes composites, avec dans 5 familles présence de la mutation c.132dupA (exon 2), responsable du décalage du cadre de lecture p.Asp45Argfs\*9. De façon inattendue, la mutation c.132dupA s'avère être très fréquente dans plusieurs groupes ethniques (1 hétérozygote /180, à la fois dans les populations américaines d'origine européenne et africaine). Cette fréquence élevée dans différentes populations s'explique vraisemblablement par la nature instable de la mutation qui est une expansion mononucléotidique survenue sur la répétition de 9 adénylates (A9). Toutefois, cette fréquence élevée n'est pas en adéquation avec la rareté de cette nouvelle forme d'ataxie. Aucun patient homozygote pour la mutation c.132dupA n'a été identifié à ce jour, ce qui suggère que cette mutation à l'état homozygote n'est soit pas viable, soit responsable d'une forme beaucoup plus sévère, à l'instar de la mutation p.Arg141His du gène phosphomannomutase 2 (PMM2) dans le déficit congénital de glycosylation CDG1a. En faveur de cette corrélation pour la mutation précocement tronquante c.132dupA (p.Asp45Argfs\*9) est le fait que les six patients homozygotes pour la mutation tronquante c.1150-1151del (exon 6, p.Leu384fs\*91) ont un âge de début significativement plus précoce (p

**Mots-clefs :** mutation instable, déficit d'homozygote, ataxie récessive

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D158/#554

### Epilepsie héréditaire et démarche diagnostique

Sanaa Nassereddine, Nadia Serbati, Hind Dehbi, Ghizlane Jabrane, Sellama Nadifi  
Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire, CHU Ibnou Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

**Auteur correspondant :** nassereddine sanaa (nassereddinesanaa@yahoo.fr)

L'épilepsie est une affection fréquente qui recouvre un ensemble hétérogène de pathologies. La participation des facteurs environnementaux et génétiques dans le déterminisme d'une épilepsie varie selon la maladie épileptique considérée.

Une démarche diagnostique est nécessaire dans l'élaboration d'une étiologie précise à la maladie épileptique; nous rapportant le cas d'une épilepsie héréditaire pour élucider les difficultés rencontrées.

**Mots-clefs :** Epilepsie, héréditaire, démarche diagnostique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D159/#555

### Le syndrome d'Apert : à propos d'une observation

sanaa Nassereddine (1), nadia Serbati (1), hind Dehbi (1), ghizlane Jebrane (2), sellama Nadifi (2)

1. Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire, CHU Ibnou Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc  
2. Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire, CHU Ibnou Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

**Auteur correspondant :** nassereddine sanaa (nassereddinesanaa@yahoo.fr)

Le syndrome d'Apert est une acrocéphalosyndactylie qui fait partie du grand groupe des crânio-facio-sténoses. Il est caractérisé par une dysmorphie crânio-faciale et une syndactylie aux mains et aux pieds qui la différencie de la maladie de Crouzon. C'est une affection rare qui est le plus souvent transmise selon un mode autosomique dominant, mais des cas sporadiques existent.

Nous rapportons le cas d'une jeune fille de 20 mois présentant des signes cliniques caractéristiques du syndrome d'Apert.

**Mots-clefs :** syndrome, Apert, observation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D160/#557

### Nouveau cas d'atrophie cérébello-cérébrale progressive par mutation de SEPSECS chez une famille française

Yline CAPRI (1), Domitille GRAS (2), Marion GERARD (3), Jennifer FABRE-TESTE (1), Diane RODRIGUEZ (4), Y LIU (5), Alain VERLOES (1), Dieter SOLL (5), Odile BOESPFLUG-TANGUY (2), Lydie BURGLIN (6)

1. Génétique médicale, CHU Robert Debré, Paris, France  
2. Neuropédiatrie, CHU Robert Debré, Paris, France  
3. Génétique médicale, CHU Caen, Caen, France  
4. Neuropédiatrie, CHU Trousseau, Paris, France  
5. Biologie moléculaire et Biochimie, Université de Yale, New Haven, USA  
6. Génétique médicale, CHU Trousseau, Paris, France

**Auteur correspondant :** CAPRI Yline (yline.capri@rdb.aphp.fr)

L'atrophie cérébello-cérébrale progressive est une entité clinique très rare initialement décrite en 2003 chez moins de 10 patients (Ben-Zeev et al.). Cette pathologie se manifeste par une spasticité sévère, un retard mental profond associé à une microcéphalie progressive. L'imagerie cérébrale retrouve une atrophie cérébelleuse suivie d'une atrophie cérébrale sévère. Des mutations bi-alléliques du gène SEPSECS sont à l'origine de cette maladie. La protéine Sepsecs et son cofacteur, le phosphate de pyridoxal, sont impliqués dans la synthèse de Sélénocystéine, le 21ème acide aminé, qui entre dans la composition du site actif de certaines enzymes : les sélénoprotéines ou sélénoprotéines, indispensables à la fonction neuronale. Nous rapportons le cas de la 1ère famille française présentant 2 enfants atteints. Le patient A est le 2ème enfant du couple, il est né au terme d'une grossesse sans particularité, avec des mensurations normales. A la naissance il présentait des pouces en adduction, une raideur généralisée et une tétraparésie spastique. Il évolue avec un retard mental profond, sa meilleure acquisition étant la tenue de tête à l'âge de 24 mois. Ses mouvements volontaires sont extrêmement pauvres et il présente une importante hypertonie du tronc et des membres. Il a développé une microcéphalie post-natale sévère passant de -3DS à 6 mois à -7DS à 7 ans. Les IRM cérébrales successives ont révélé une atrophie cérébelleuse rapidement suivie d'une atrophie cérébrale majeure. Le patient B est la 4ème enfant de la fratrie. Une récurrence de la pathologie a été suspectée chez la jeune sœur du patient A devant l'apparition, à 3 mois de vie, de mouvements dystoniques, d'une rigidité du tronc et d'une microcéphalie progressive. Le séquençage de SEPSECS a révélé chez les 2 enfants la présence de 2 nouvelles mutations : une mutation intronique prédite comme affectant le site d'épissage de l'exon 1 ; une mutation faux-sens pour laquelle les études fonctionnelles confirment qu'elle affecte sévèrement la fonction de la protéine Sepsecs (absence de restauration de l'activité d'une sélénoprotéine, la formate déshydrogénase, dans une souche E.Coli déficiente pour la sélénocystéine synthase, enzyme essentielle à la synthèse de la sélénocystéine chez la bactérie).

**Mots-clefs :** atrophie cérébello-cérébrale progressive, SEPSECS, Sélénoprotéine

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D161/#558

### Syndrome de Freeman-Sheldon chez un patient marocain : description clinique et identification de la mutation p.Arg672Cys du gène MYH3

ilham Ratbi (1), Fatiha Elkerch (2), Ali Elayoubi (3), Abdelaziz Sefiani (2)  
1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc  
2. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc  
3. Unité d'oto-rhino-laryngologie A, Hôpital des spécialités, rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** Ratbi Ilham (i.ratbi@um5s.net.ma)

Le syndrome de Freeman-Sheldon (SFS) est un syndrome arthrogryposique rare caractérisé par une dysmorphie faciale particulière dite « face du siffleur », associée à des anomalies osseuses et des contractures articulaires. Les trois anomalies caractéristiques sont une microstomie avec des lèvres en U, une camptodactylie avec une déviation cubitale de la main et un pied bot varus équien. Le tableau clinique peut également comprendre une scoliose, un sillon mentonien en H, des plis naso-labiaux profonds et un blépharophimosis. Une dysphagie, un retard de croissance et des complications pulmonaires dues à des altérations structurelles de l'oropharynx et des voies aériennes supérieures sont fréquents. Le SFS est de transmission autosomique dominante et la plupart des cas sont sporadiques. Il est lié à des mutations du gène MYH3 en 17p13.1 avec des mutations récurrentes rapportées au niveau de l'Arg672. Nous rapportons l'observation d'un patient âgé de 5 ans qui présente une arthrogrypose congénitale associée à une dysmorphie faciale très en faveur d'un SFS. Son développement cognitif est par ailleurs normal. La mutation p.Arg672Cys (c.2083C>T) du gène MYH3 a été identifiée chez lui à l'état hétérozygote par PCR-séquençage direct. Cette mutation n'a pas été retrouvée chez ses parents. La confirmation moléculaire du diagnostic de SFS chez ce patient nous a permis d'adapter sa prise en charge médicale, de prendre des mesures préventives pour son anesthésie et de prodiguer un conseil génétique à ses parents.

**Mots-clés :** Arthrogrypose, syndrome de Freeman-Sheldon, gène MYH3

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D162/#562

### Mutations de TERT et TERC dans les familles de fibroses pulmonaires idiopathiques: 23 nouvelles mutations

Christelle Ménard (1), Marion Réocreux (1), Raphael Borie (2), Bruno Crestani (3), P Delaval (4), Sylvain Marchand Adam (5), Jean Marc Naccache (7), Hilario Nunes (8), Grégoire Prévot (9), Tazi A. (10), Catherine Boileau (11), Bernard Grandchamp (11), Patrick Revy (12), Caroline Kannengiesser (11)  
1. Service de génétique, Bichat HUPNVS, Paris, France  
2. Service de pneumologie, Bichat HUPNVS, INSERM, Paris, France  
3. Service de pneumologie, INSERM, UNIVERSITE PARIS 7, hôpital Bichat HUPNVS, Paris, France  
4. Service de pneumologie, CHU Rennes, Rennes, France  
5. Service de pneumologie, CHU Tours, Tours, France  
7. Service de pneumologie, Hôpital Tenon, Paris, France  
8. Service de pneumologie, hôpital Avicenne, INSERM, université paris 13, Paris, France  
9. Service de pneumologie, INSERM, UNIVERSITE, CHU Toulouse, Toulouse, France  
10. Service de pneumologie, INSERM, UNIVERSITE PARIS 7, hôpital Saint Louis, Paris, France  
11. Service de génétique, Bichat HUPNVS, INSERM, UNIVERSITE PARIS 7, Paris, France  
12. INSERM, hôpital NECKER, Paris, France

**Auteur correspondant :** Kannengiesser Caroline (kannengiesserc@yahoo.fr)

La fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) est une maladie rare et très sévère de manifestation tardive (en général, après 50 ans). Il existe un sous-groupe correspondant à des formes monogéniques de transmission dominante. Des mutations hétérozygotes dans les gènes TERT et TERC, codant pour des sous-unités du complexe de la télomérase, sont identifiées dans environ 15% des formes familiales et plus rarement dans les cas sporadiques. Depuis 2008, l'exploration moléculaire de TERT et TERC est réalisée au laboratoire dans les formes familiales de FPI ou dans les cas d'association de FPI sporadiques avec une atteinte hématologique (par exemple aplasie ou syndrome myélodysplasique) ou hépatologique (par exemple cirrhose cryptogénique) correspondant au spectre clinique des téloméropathies. Nous avons identifié 22 mutations hétérozygotes de TERT chez 24 cas index dont 20 mutations jamais rapportées dans la littérature. La majorité des mutations sont des mutations faux sens. Nous avons aussi mis en évidence 4 mutations hétérozygotes de TERC chez 6 patients. Etablir la pathogénicité de ces mutations de TERT et TERC est critique pour évaluer le risque de développer une téloméropathie chez les apparentés porteurs de la mutation. En considérant –les résultats de l'étude de co-ségrégation de la mutation avec le phénotype quand elle était réalisable, -la présence des variants dans les bases de données (Exome variant Server, 1000 génomes), -l'impact prédit in silico de la variation sur la fonction de la protéine ou sur l'épissage, –et la taille des télomères évaluée en southern blot pour les porteurs de mutation, nous concluons que la plupart des variants de TERT peuvent très probablement être considérés comme des mutations délétères, alors qu'il est plus difficile de conclure sur les variants rares de TERC codant la sous unité ARN de la télomérase. Distinguer les mutations des variants sans conséquence fonctionnelle ne fournit pas seulement une information utilisable pour le conseil génétique mais aussi contribue à une meilleure compréhension des acides aminés ou nucléotides fonctionnellement critiques de TERT ou TERC.

**Mots-clés :** fibrose pulmonaire idiopathique, telomerase, TERT TERC

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D163/#563

### La maladie de Steinert aux Antilles Guyane

Joël Bellance (1), Rémi Bellance (1), Alice Demoly (2), Maïa Forgues (3), Véronique Laraillet (4), Serge Sainte-Foie (5), Elisabeth Sarrazin (1), Anna-gaëlle Valard (1)

1. Centre de Référence caribéen, CHU Martinique, Fort-de-France, France
2. Consultation multidisciplinaire des maladies rares neuromusculaires & SLA, CHU Guadeloupe, Pointe-à-Pitre, France
3. Médecine interne, CH Andrée Rosemon, Cayenne, France
4. Gériatrie, CH Cayenne, Cayenne, France
5. neurologie, privé, Cayenne, France

**Auteur correspondant :** VALARD Anna-gaëlle (annavalard@hotmail.com)

La maladie de Steinert ou dystrophie myotonique de type 1 est une myopathie d'origine génétique caractérisée par une myotonie et une atteinte multi systémique de degré divers. Sa prévalence est variable selon les régions géographiques. En France, elle est estimée à 1/20 000. Il n'y aurait pas de prévalence ethnique mais il semblerait que la maladie soit moins fréquente dans les populations africaines.

La population caribéenne, issue des flux de migration des populations, est essentiellement métisse des ethnies africaines, américaine, asiatique et caucasienne.

Depuis 1995, le centre de référence caribéen des maladies rares neurologiques et neuromusculaires (Cerca) recense 51 patients de Martinique, Guadeloupe et Guyane. La prévalence de cette maladie aux Antilles semble donc équivalente à celle de la France continentale. 8 familles de taille variable sont suivies au Cerca. 10 personnes ne souhaitent pas être suivies. 75% des personnes suivies ont été dépistées par l'enquête familiale et le conseil génétique. Nous présentons ici les caractéristiques symptomatologiques des patients suivis aux Antilles qui ne semblent pas spécifiques.

**Mots-clefs :** dystrophie myotonique de type 1, Antilles-Guyane, prévalence

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D164/#568

### Rhabdomyolyse par déficit en Lipin1 : découverte d'une voie physiopathologique impliquant la surexpression d'ACACB et démonstration du rôle majeur des cytokines pro-inflammatoires.

caroline michot (1), asmaa mamoune (2), Joseph Vamecq (3), Yamina Hamel (2), Mai Thao Viou (4), éric testet (5), jeanne lainé (6), Laurence Hubert (2), anne-frédérique dessein (3), monique fontaine (7), chris ottolenghi (2), laetitia fouillen (5), karim nadra (8), étienne blanc (9), jean bastin (9), mario pende (9), arnold munnich (2), asma smahi (2), fatima djouadi (9), norma roméro (10), yves de keyzer (2), pascale de lonlay (2)

1. Inserm U781, Imagine Institut des Maladies Génétiques, Université Paris Descartes et Centre de Référence des Maladies Héritaires du Métabolisme, Hôpital Necker, Paris, France

2. Inserm U781, Imagine Institut des Maladies Génétiques, Université Paris Descartes et Centre de Référence des Maladies Héritaires du Métabolisme, Hôpital Necker, Paris, France
3. Inserm & Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, HMNO, CBP, CHRU de Lille, Lille, France
4. Université Pierre et Marie Curie, UM 76, Inserm U974, CNRS UMR 7215, Institut de Myologie, GHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Laboratoire de Biogenèse Membranaire-UMR 5200, CNRS, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
6. Inserm U974 et UPMC, Site Pitié-Salpêtrière, Département de Physiologie, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
7. Inserm & Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, HMNO, CBP, CHRU de Lille, Lille, France
8. Inserm U845, Université Paris Descartes, Paris, France
9. Inserm U747 et APHP, Université Paris Descartes, Paris, France
10. Université Pierre et Marie Curie, UM 76, Inserm U974, CNRS UMR 7215, Institut de Myologie, GHU Pitié Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** De Lonlay Pascale (pascale.delonlay@nck.aphp.fr)

Les rhabdomyolyses, destruction des fibres musculaires striées, mettent en jeu le pronostic vital. Les principales causes génétiques sont les défauts d'oxydation des acides gras (OAG), mais les mutations de LPIN1 ont été décrites comme une nouvelle étiologie autosomique récessive de rhabdomyolyses sévères du jeune enfant. Lipin1 a une double fonction : 1) phosphatidate phosphatase 1 (PAP1) intervenant dans la synthèse du triacylglycérol et des phospholipides membranaires ; 2) co-activateur transcriptionnel des PPARs (peroxysome-proliferator activated receptor) et de GGC1a (PPARγ-coactivator1a) pour réguler de nombreux gènes du métabolisme, dont certains de l'OAG. Lipin1 a deux homologues, lipin2 et lipin3, ayant une activité PAP1 et un site de fixation aux récepteurs nucléaires tels que les PPARs.

Nous avons recruté une cohorte de 171 patients avec un large spectre de pathologies musculaires, des myalgies aux rhabdomyolyses sévères. LPIN1, LPIN2 et LPIN3 ont été séquencés, puis la caractérisation physiopathologique a été faite sur culture de myoblastes et de myotubes de patients déficients en Lipin1.

Aucune altération de LPIN2 et de LPIN3 n'a été identifiée, quel que soit le phénotype. LPIN1 est impliqué dans les rhabdomyolyses sévères et précoces uniquement, et ce dans plus de 50% des cas. Les accès de rhabdomyolyse ont toujours un facteur déclenchant, surtout les infections. Les myoblastes déficients en lipin1 ont une activité PAP1 effondrée et une accumulation de gouttelettes lipidiques. L'expression des gènes cibles des facteurs de transcription co-activés par lipin1 (PPARdelta, PPARalpha, PGC1alpha, acyl-CoA très longue chaîne déhydrogénase, carnitine palmitoyl-transférase 1B et 2) est inchangée par rapport aux contrôles. L'analyse transcriptomique a identifié chez les patients 19 gènes sous-exprimés et 51 surexprimés, notamment ACACB, codant pour AcCbéta, enzyme clé de la balance synthèse d'acides gras/OAG. L'inactivation d'ACACB par siRNA dans des myoblastes déficients en lipin1 diminue le nombre de gouttelettes lipidiques. Le taux de malonyl-CoA, produit d'AcCbéta, et l'activité CPT1 (étape limitatrice de l'OAG, inhibée par le malonyl-CoA), sont comparables entre patients et contrôles à l'état de base, mais sont modifiés par l'adjonction de cytokines pro-inflammatoires. L'augmentation du taux de malonyl-CoA et la diminution de l'activité CPT1 expliquent l'exacerbation de l'accumulation de gouttelettes lipidiques observées chez les patients dans ces conditions inflammatoires.

Ainsi, le déficit en lipin1 perturbe le métabolisme lipidique, via une sur-expression d'ACACB. Les conséquences du déficit en lipin1 sont compensées par des mécanismes d'adaptation suffisants en condition normale, mais insuffisants en cas de stress environnemental comme l'infection. Nous étudions actuellement le possible caractère auto-inflammatoire du déficit en lipin1.

**Mots-clefs :** rhabdomyolyse, lipin1, inflammation



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D165/#570

### Analyse des gènes PKD1 et PKD2 dans les formes prénatales ou néonatales de polykystose rénale autosomique dominante : identification de mutations hypomorphes

Marie Pierre AUDREZET (1), Christine CORBIERE (2), Stéphane DECRAMER (3), Françoise BROUX (4), Ferialle LOUILLET (4), Michel FISCHBACH (5), Ariane ZALOSZYC (6), Sylvie CLOAREC (7), Elodie MERIAUX (8), Véronique BAUDOUIN (9), Gaëlle ROUSSEY (10), Corinne ABEL (11), Annie LAHOUCHE (12), Hanitra RANDRIANAIVO (13), Lucie BESSENAY (14), Djilila MEKAHLI (15), J OUERTANI (16), Olivia BOYER (2), Rémi SALOMON (17), Claude FEREC (1), Laurence HEIDET (17)

1. Génétique Moléculaire, CHRU, brest, France
2. Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants, Toulouse, France
4. Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
5. Pédiatrie, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
6. Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
7. Service de Néphrologie Pédiatrique, Centre de Pédiatrie Gatien de Clocheville, Tours, France
8. Néphrologie, Hôpital BRETONNEAU, Tours, France
9. Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
10. Pédiatrie, Hôpital mère et enfant, Nantes, France
11. Gynécologie-obstétrique, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France
12. Pédiatrie, Hôpital Jeanne DE FLANDRE, Lille, France
13. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic, Groupe Hospitalier Sud Réunion, Saint Pierre, France
14. Service de Néphrologie Pédiatrique, CHU ESTAING, Clermont Ferrand, France
15. Service de Néphrologie Pédiatrique, Centre Hospitalier, Leuven, Belgique
16. Néphrologie, Centre Hospitalier, Monastir, Tunisie
17. Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** AUDREZET Marie Pierre (marie-pierre.audrezet@chu-brest.fr)

**Introduction :** Les cas de polykystose rénales autosomique dominante (ADPKD) à expression fœtale ou néonatale sont rares mais rencontrés régulièrement. Un très petit nombre de cas a été rapporté chez lesquels les études moléculaires ont montré, en plus de la mutation des gènes PKD1 ou PKD2 héritée du parent atteint, soit une variation hypomorphe de ces gènes héritée du parent sain, soit une (des) mutation(s) dans un autre gène de ciliopathie (HNF1B, PKHD1). L'objectif de cette étude prospective et rétrospective est d'évaluer la proportion de cas d'ADPKD diagnostiqués en prénatal ou en période néonatale porteurs de variants des gènes PKD1 ou PKD2 en plus de l'allèle délétère hérité du parent sain.

**Patients et Méthodes :** Trente-cinq trios, incluant 32 enfants et 3 fœtus, ont été inclus dans cette étude. Dans trente trois cas, la maladie était héritée, deux enfants ne présentaient aucun antécédent de polykystose rénale. L'analyse moléculaire de la totalité de la séquence codante et des jonctions introns-exons des gènes PKD1 et PKD2 a été faite par séquençage direct, et qFM-PCR, MLPA et CGH-array grâce à une puce à ADN dédiée pour la recherche des grands réarrangements.

**Résultats :** L'étude moléculaire est actuellement achevée dans 27 cas. Dans un cas aucune mutation n'a été identifiée chez le cas index. La mutation causale chez le probant, identifiée dans 26 cas, touchait majoritairement le gène PKD1 (n=25) et deux mutations de novo ont été mises en évidence chez deux patients.

Chez 13 patients, au moins un autre variant, hérité du parent sain, a été identifié (dans 10 cas il s'agit d'un variant du gène PKD1, dans deux cas d'un variant PKD1 et un variant PKD2, dans un cas le parent sain est porteur de 3 variants PKD1 et d'un variant PKD2 mais le cas index n'a pas été testé). Enfin, dans 11 cas aucune autre variation, en plus de la mutation causale, n'a été identifiée. Ces anomalies moléculaires sont majoritairement identifiées pour la première fois

dans cette étude, à l'exception de deux variations non classées et d'une mutation hypomorphe déjà décrite

**Conclusion :** Dans cette étude préliminaire, la moitié des cas d'ADPKD à expression anténatale ou néonatale ont hérité, en plus de la mutation causale, d'au moins un variant PKD1 du parent sain. Ces résultats suggèrent que les formes prénatales d'ADPKD sont fréquemment associées à une mutation hypomorphe PKD1 héritée du parent sain, en plus de la mutation causale, qui entraînerait un « niveau d'activité » de polycystine 1 inférieur à celui des patients atteints des formes habituelles (adultes) de la maladie. Il sera intéressant de tester chez ces patients (en particulier ceux chez qui aucun variant en trans n'a été identifié) les autres gènes connus de ciliopathies rénales.

**Mots-clés :** ADPKD, mutation hypomorphe, Diagnostic prénatal

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D166/#577

### Phénotype modéré d'ostéopathie striée avec sclérose crânienne chez le garçon

Abdelkader HEDDAR (1), Didier PINQUIER (2), Caroline LARDENNOIS (2), Marc LUBRANO LAVADERA (3), Caroline PARROD (3), Genevieve BAUJAT (4), Stephen ROBERTSON (5), Thierry FREBOURG (1), Alice GOLDENBERG (1)

1. département de génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
2. service de pédiatrie néonatale et réanimation, CHU de Rouen, Rouen, France
3. département de pédiatrie, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Centre de référence des maladies osseuses constitutionnelles, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
5. department of Paediatrics and Child Health, Dunedin School of medicine - University of Otago, Dunedin, Nouvelle zelande

**Auteur correspondant :** Goldenberg Alice (Alice.Goldenberg@chu-rouen.fr)

L'ostéopathie striée avec sclérose crânienne [OMIM 300373], due à des mutations tronquantes du gène WTX, est caractérisée par des stries longitudinales des os longs associée à une sclérose crânienne de transmission dominante lié à l'X. Chez les femmes le phénotype comporte en plus une dysmorphie crânio-faciale caractéristique avec macrocrânie, une surdité et des anomalies dentaires et palatines. Le phénotype masculin est bien plus sévère et malformatif, souvent léthal. Des formes viables chez les garçons avec une probable transmission paternelle ont été décrites dans des publications récentes. Ici nous présentons l'observation d'un enfant âgé de 5 ans qui a présenté à la naissance un syndrome de Pierre Robin sévère compliqué de troubles alimentaires et respiratoires et associé à une dysmorphie (front haut et carré, hypertrophie gingivale, présence d'une dent néonatale). Une cardiopathie hypertrophique s'est révélée à l'âge de 2 mois et demi a été traitée initialement par bêtabloquant et a évolué favorablement après correction d'un taux bas de carnitine. L'évolution a été marquée par une macrocéphalie sévère à plus de 3 DS, une petite taille à moins de 1.5 DS et un retard de développement modéré. L'analyse moléculaire du gène WTX a mis en évidence une mutation délétère (c.1322delC; p.Pro441Glnfs\*8), d'origine maternelle, localisée dans le deuxième et dernier exon. Cette mutation n'a jamais été rapportée mais son impact sur la protéine normalement composée de 1135 acides aminés et la très forte conservation phylogénique de domaines situés en aval du résidu 441 orientent vers son caractère délétère. L'examen clinique a posteriori de la mère a permis de retrouver des anomalies dentaires, une macrocéphalie et des stries longitudinales des os longs aux radiographies. Cette observation conforte la corrélation génotype phénotype établie initialement par Jankins et al et selon laquelle les mutations situées en 3' du gène WTX sont associées à un phénotype masculin modéré. Cette observation doit inciter à envisager le diagnostic d'ostéopathie striée avec sclérose crânienne par mutation de WTX devant un syndrome de Pierre Robin associé à

une macrocranie une dysmorphie et une petite taille chez le garçon, même en l'absence de stries sur les os longs, compte-tenu du phénotype masculin modéré d'ostéopathie striée.

**Mots-clefs :** ostéopathie striée avec sclérose crânienne, WTX, phénotype masculin viable

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D167/#579

### Confirmation génétique de mosaïcisme germinale chez une famille tunisienne atteinte de myopathie de Duchenne

Moez Gribaa (1), Wiem Manoubi (1), Hechmi Ben Hamouda (2), Sihem Sassi (1), Ilhem Ben Charfeddine (1), Abdelbasset Amara (1), Imene Chatti (1), Dorra Hmida (1), Anouar Chaieb (3), Imene Miniaoui (1), Ali Saad (1)  
1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de la Biologie de la Reproduction Humaine, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie  
2. Service de Pédiatrie, CHU Tahar Sfar, Mahdia, Tunisie  
3. Service de Gynécologie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

**Auteur correspondant :** Manoubi Wiem (wiem62@hotmail.fr)

Introduction:

La myopathie de Duchenne ou dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est une maladie dégénérative des fibres musculaires. C'est une dystrophinopathie à transmission récessive liée au chromosome X en rapport avec l'absence d'une protéine du cytosquelette; la Dystrophine. En général, seuls les garçons sont atteints et les femmes sont vectrices. Dans certains cas, ces femmes peuvent ne porter l'anomalie génique responsable qu'à l'état de mosaïcisme germinale. Cette situation a été souvent suspectée mais rarement confirmée par des études génétiques.

Objectif: Dans ce cadre, nous rapportons une famille tunisienne dont plusieurs enfants sont atteints de DMD. Les analyses génétiques ont montré un profil de transmission particulier témoignant d'un mosaïcisme germinale maternel.

Patients et méthode: Il s'agit d'une famille tunisienne composée des deux parents, de quatre garçons et deux filles. Deux des quatre garçons avaient des signes physiques, enzymatiques et électrophysiologiques très en faveur de DMD. L'étude génétique a permis une analyse des délétions et des duplications des différents exons du gène de la Dystrophine par MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Un génotypage, par l'analyse de six marqueurs microsatellites entourant ou à l'intérieur du gène de la Dystrophine, a permis de dresser l'haplotype de chaque individu et de suivre la transmission de la phase haplotypique liée à la maladie.

Résultat : La MLPA a montré, chez les deux atteints, une délétion emportant les exons 61 et 62 du gène de la Dystrophine. Cependant, l'étude indirecte par génotypage a révélée la présence de la phase haplotypique liée à la maladie chez trois des garçons dont un est phénotypiquement sain et ne présente pas la délétion responsable chez ses deux frères.

Discussion et Conclusion: Nous sommes devant un cas de mosaïcisme germinale. En effet, la mère a transmis la même phase haplotypique du chromosome X à 3 de ses garçons, dont 2 seulement sont malades et portant la délétion des exons 61 et 62 du gène de la Dystrophine. Ce ci s'explique par la présence, dans ses cellules germinales (ovocytes), de 2 populations cellulaires ; l'une porte la délétion et l'autre ne la porte pas, permettant une transmission aléatoire de la maladie à ses garçons. Ceci représente un des rares cas de mosaïcisme germinale confirmé génétiquement.

**Mots-clefs :** Myopathie de Duchenne, Dystrophine, Mosaïcisme germinale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D168/#585

### Etude clinique et génétique d'un patient tunisien atteint d'une lithiase biliaire à faible niveau de phospholipides

Imene Miniaoui (1), Saloua Abdelati Hergli (2), Moez Gribaa (1), Dorra Hmida (1), Wiem Manoubi (1), Ilhem Charfeddine (1), Abdelbasset Amara (1), Imene Chatti (1), Saoussen Trabelsi (1), Marwa Chourabi (1), Marwa Haddaji (1), Gendrot Chantal (3), Ali Saad (1)

1. Service de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaine. CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie.  
2. Consultation d'Hépatogastro-entérologie, Polyclinique de la Caisse Nationale de Sécurité Sociale, Sousse, Tunisie.  
3. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Bretonneau, Tours, France

**Auteur correspondant :** Miniaoui Imene (imene\_miniaoui@hotmail.fr)

Introduction:

La lithiase biliaire à faible niveau de phospholipides « Low Phospholipid Associated Cholelithiasis » (syndrome LPAC) est une pathologie très rare. Elle est caractérisée par au moins deux des critères suivants : apparition des premiers symptômes avant l'âge de 40 ans, récurrence des symptômes après cholécystectomie, détection de foyers échogènes intrahépatiques et une histoire familiale de lithiase chez les parents du premier degré. Elle est causée dans environ 50% des cas par des mutations dans le gène ABCB4, qui code pour la protéine MDR3 dont le rôle est le transport biliaire de phospholipides. Objectif: Dans ce cadre, nous rapportons un cas de syndrome LPAC suspecté cliniquement et confirmé génétiquement avec une revue de la littérature.

Patient et méthode:

Il s'agit d'un patient âgé de 31 ans qui a consulté pour des douleurs de l'hypochondre droit et de la fièvre. Dans ses antécédents personnels, on note une cholécystectomie pour cholécystite 7 ans auparavant, et dans ses antécédents familiaux une cholécystectomie chez une tante maternelle.

Les douleurs étaient intermittentes. La fièvre s'élevait à 38-39°C. La palpation de l'hypochondre droit était douloureuse. L'ALAT était à 5 fois la normale et l'ASAT à 2 fois la normale. Les phosphatases alcalines et la  $\gamma$ -GT étaient respectivement à 2 et 5 fois la normale.

Le malade réunissait trois des critères évoquant le diagnostic de lithiase intrahépatiques cholestéroliques ou syndrome LPAC : un début avant 40 ans, une récurrence des symptômes de type biliaire après une cholécystectomie et un antécédent de lithiase chez une parente du premier degré.

Devant ces signes très vraisemblablement d'origine biliaire, le premier examen à effectuer est une échographie abdominale. Celle-ci a montré de nombreuses images échogènes intrahépatiques (segment VII) de 4 mm de diamètre. Cet aspect est très évocateur du syndrome LPAC. Le diagnostic de lithiase intrahépatique a été confirmé par la mise en évidence d'une mutation dans le gène ABCB4.

Résultat :

Le séquençage direct des exons 2 à 28 de ce gène a révélé que le patient présente la mutation p.Ala934Thr dans l'exon 23 du gène ABCB4 à l'état hétérozygote. Cette mutation se situe dans la 5ème boucle intracytoplasmique, hautement conservée de la protéine MDR3.

Un traitement par l'acide ursodesoxycholique a été instauré. Un an après le début de ce traitement, le patient n'a signalé aucune crise.

Discussion et Conclusion:

La connaissance du syndrome LPAC, son diagnostic de certitude par la mise en évidence d'une mutation du gène ABCB4, et son traitement par l'acide ursodesoxycholique ont permis à ce patient d'espérer un avenir sans récurrence. Le test génétique a permis en outre une enquête familiale précise et le traitement d'éventuels malades asymptomatiques ou symptomatiques avant l'apparition des complications.

**Mots-clefs** : lithiase biliaire à faible niveau de phospholipides, Gène ABCB4, Protéine MDR3

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D169/#588

### Identification d'une nouvelle mutation homozygote c.3296T>C (p.Phe1099Ser) du gène CFTR chez un patient marocain

Lamiaie Boualla (1), Ilham Ratbi (2), Jaber Lyahyai (2), Nezha Dini (3), Emmanuelle Girodon (4), Catherine Costa (4), Abdelaziz Sefiani (5)

1. le centre de Génomique Humaine, Faculté de médecine et pharmacie Rabat, Rabat, Maroc
2. le centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc
3. Service de pédiatrie, Hôpital d'Instruction Militaire Mohammed V, Rabat, Maroc
4. Service de Biochimie et Génétique, Groupe hospitalier Henri Mondor-Albert Chenevier, 94010 Créteil, Créteil, France
5. Département de Génétique Médicale, l'Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant** : Boualla Lamiaie (lamiaie\_boualla@yahoo.fr)

La mucoviscidose, ou fibrose kystique du pancréas, est la maladie génétique autosomique récessive la plus fréquente dans les populations Caucasiennes. Son incidence est variable en fonction des populations. Elle est estimée entre 1/1680 et 1/4150 chez la population marocaine. Les manifestations principales cliniques sont respiratoires et digestives. Cette pathologie est due à des mutations du gène CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) en 7q31 impliqué dans régulation des flux hydro-électrolytiques transmembranaires. A ce jour, plus de 1949 mutations ont été rapportées dans la littérature (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>) avec des corrélations phénotype-génotype. La distribution de ces mutations est à la fois hétérogène et variable selon les groupes ethniques.

Nous rapportons l'observation d'un enfant de deux ans, consanguin, dernier d'une fratrie de cinq qui présente depuis la naissance des pneumopathies à répétition et des diarrhées aiguës. Le test de la sueur était positif. Il a un frère décédé à 2 mois de vie dans le même tableau clinique. L'étude moléculaire du gène CFTR a permis d'identifier chez lui une nouvelle mutation faux-sens c.3296T>C (p.Phe1099Ser) au niveau de l'exon 20 à l'état homozygote. Par ailleurs cette mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez les parents. Le caractère délétère de la mutation a été étayé par les outils bio-informatiques.

La confirmation moléculaire du diagnostic de mucoviscidose dans cette famille, nous a permis d'adapter la prise en charge clinique du patient et de prodiguer un conseil génétique adéquat à ses apparentés.

**Mots-clefs** : Mucoviscidose, Gène CFTR, Nouvelle mutation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D170/#589

### Expressivité variable intra-familiale d'une polydactylie préaxiale : mise en évidence d'une mutation en mosaïque de la ZRS par pyroséquençage et SNAP-Shot

CLEMENCE VANLERBERGHE (1), LAURENCE OLIVIER-FAIVRE (2), FABIENNE ESCANDE (3), ANNE SOPHIE JOURDAIN (4), FLORENCE PETIT (1), SYLVIE MANOUVRIER HANU (1)

1. SERVICE DE GENETIQUE CLINIQUE, CHRU LILLE, LILLE, France
2. SERVICE DE GENETIQUE CLINIQUE, CHU DIJON, DIJON, France
3. LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE, CHRU LILLE, LILLE, France
4. LABORATOIRE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE, CHRU LILLE, LILLE, France

**Auteur correspondant** : VANLERBERGHE CLEMENCE (clemence.vanlerberghe@gmail.com)

La polarisation antéro-postérieure des membres est initiée précocement au cours du développement afin de mettre en place le nombre et l'identité des doigts. La zone d'activité polarisante (ZPA), région mésenchymateuse située au bord postérieur du bourgeon de membre, en constitue le centre de signalisation. La molécule signal Sonic HedgeHog (SHH), exprimée spécifiquement par les cellules de la ZPA, est un morphogène dont le gradient d'expression détermine la différenciation des doigts. L'expression ectopique de SHH est responsable de malformations congénitales des membres de type polydactylie préaxiale (PDP). Ces formes autosomiques dominantes de polydactylie concernent environ 1 naissance sur 2000 et présentent une expressivité variable : polydactylies pré-axiales, pouces triphalangés ou polysyndactylies, éventuellement associées à une atteinte des os longs. La grande majorité des PDP isolées est liée au gain de fonction (par mutation ponctuelle ou gain en nombre de copie) d'une séquence non codante régulatrice de SHH. Cette séquence, dénommée ZRS (ZPA Regulatory Sequence), est localisée en 7q36 en amont du gène SHH et présente une activité spécifique au développement du membre.

Nous rapportons l'observation d'un patient présentant une polydactylie en miroir des 4 extrémités associée à une agénésie tibiale gauche et une hypoplasie tibiale droite. Son père présente une atteinte plus modérée à type de pouces triphalangés. Le séquençage de la ZRS a mis en évidence chez le propositus une mutation ponctuelle de la ZRS (c.423+4931A>G), non détectée par cette technique chez les parents. L'hypothèse d'un mosaïcisme somatique paternel a été étudiée par SNAP-Shot et pyroséquençage, confirmant la présence de la mutation à taux faible (environ 10 %) dans le sang. Il s'agit à notre connaissance du premier cas de mosaïcisme décrit pour une mutation de la ZRS. L'utilisation du SNAP-Shot ou du pyroséquençage constituent des approches techniques originales pour la mise en évidence d'une mutation ponctuelle en mosaïque à faible taux, dont l'intérêt est à considérer pour le conseil génétique familial.

**Mots-clefs** : ZRS, polydactylie préaxiale, mosaïcisme

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D171/#592

### Les mutations FGFR3 perturbent l'ossification membranaire dans l'achondroplasie

Federico Di Rocco (1), Martin Biosse-Duplan (2), Yann Heuzé (3), Davide Komla-Ebri (4), Nabil Kaci (4), Arnold Munnich (4), Emilie Mugniery (4), Catherine Benoist-Lasselain (4), Laurence Legeai-Mallet (4)

1. Unité craniofaciale-INSERM U781, Hôpital Necker, Paris, France
2. Service d'Otologie, Inserm U781, Hôpital Necker, Paris, France
3. Department of Anthropology, The Pennsylvania State University, University Park, USA
4. INSERM U781, Hôpital Necker, Paris, France

**Auteur correspondant :** Legeai-Mallet Laurence (laurence.legeai-mallet@inserm.fr)

Les mutations gain de fonction localisées dans le gène FGFR3 (Fibroblast Growth Factor Receptor 3) sont responsables à la fois d'une famille de chondrodysplasies et de craniosténoses. La mutation FGFR3 activatrice responsable de l'achondroplasie (ACH), entraîne des perturbations importantes de l'ossification endochondrale. A ce jour, l'impact de la mutation ACH sur l'ossification membranaire reste inconnu. Afin d'étudier les anomalies cranio-faciales dues aux mutations FGFR3, nous avons analysé le phénotype de souris Fgfr3Y367C/+ mimant l'achondroplasie et celui de patients atteints d'achondroplasie et de craniosténoses liées à des mutations FGFR3. En analysant la base du crâne des souris Fgfr3Y367C/+ et des patients ACH, nous avons observé une fusion prématurée des synchondroses et une réduction de taille du foramen magnum chez l'homme et la souris. Nous avons également mis en évidence une réduction de taille du foramen magnum des patients atteints de craniosténoses liées à FGFR3.

Les analyses macroscopiques, histologiques et morphologiques de la voûte du crâne des patients ACH et des souris Fgfr3Y367C/+ ont montré la présence de fusions prématurées des sutures coronales et la persistance d'un foramen au niveau de l'os frontal. Les cultures de calvaria de souris Fgfr3Y367C/+ ont confirmé ces anomalies du processus d'ossification membranaire au niveau de l'os frontal.

En conclusion, nous montrons que dans l'achondroplasie l'ossification endochondrale mais aussi l'ossification membranaire sont affectées et que les défauts membranaires sont en partie responsables des anomalies cranio-faciales de ces patients.

**Mots-clés :** Achondroplasie, FGFR3, anomalies craniofaciales

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D172/#595

### Paraplégie spastique liée au gène SPG7 : nouveaux cas de modes de transmission autosomique dominant ?

Estelle Fedirko (1), Elodie Lejeune (2), Oriane Trouillard (3, 4), Philippe Busson (5), Alexandra Durr (3, 4, 6, 7) Bertrand Fontaine (8), Elisabeth Ollagnon-Roman (9), Ghislaine Plessis (10), Christophe Vial (11), Cecile Cazeneuve (1), Fabienne Clot (1), Christel Depienne (1, 3, 4, 6), Giovanni Stevanin (3, 4, 6, 12), Eric Leguern (1, 3, 4, 6), Guillaume Banneau (1)

1. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
2. UF de Génétique Chromosomique, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
3. Inserm, UMR\_S975, CRICM, Paris, France
4. CNRS, UMR 7225, Paris, France
5. Service de Médecine, Centre Hospitalier d'Avranches, Avranches, France
6. UPMC Université Paris 06, UMR\_S975, Paris, France
7. Fédération de Génétique, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
8. Département de Neurologie, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
9. Service de Génétique, Hôpital Hôtel-Dieu, Lyon, France
10. Consultation de Génétique, CHU Clémenceau, Caen, France
11. Service d'Electroneuromyographie et de Pathologies Neuromusculaires, Hôpital Neurologique et Neurochirurgical Pierre Wertheimer, Bron, France
12. Equipe de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Paris, France

**Auteur correspondant :** Banneau Guillaume (guillaume.banneau@psl.aphp.fr)

Les paraplégies spastiques héréditaires, ou maladie de Strümpell-Lorrain, sont un ensemble de maladies neurodégénératives rares phénotypiquement et génétiquement hétérogène, avec une prévalence estimée entre 3 et 10 cas pour 100 000 habitants en Europe. Ces pathologies se caractérisent principalement par la présence d'un syndrome pyramidal progressif et d'une spasticité des membres inférieurs dans les formes « pures », les formes « complexes » étant associées de façon variable à un ou plusieurs signes neurologiques ou extraneurologiques (déficit intellectuel, syndrome cérébelleux, neuropathie...). L'âge de début est variable et peut être hétérogène dans une même famille ; la pénétrance est également variable. En plus d'une grande hétérogénéité clinique, ces pathologies sont également caractérisées par une diversité des modes de transmission (autosomique dominant, autosomique récessif, lié à l'X ou mitochondrial) et des gènes impliqués. Ainsi, à ce jour, plus d'une cinquantaine de loci ont déjà été identifiés. Le gène SPG7 a été identifié comme responsable d'une paraplégie spastique héréditaire de forme pure ou complexe débutant principalement chez le jeune adulte. Les patients SPG7 peuvent présenter en plus d'une paraplégie spastique un syndrome cérébelleux (avec ou sans atrophie cérébelleuse visible à l'IRM), des troubles oculomoteurs (nystagmus, strabisme), une diminution de la sensibilité vibratoire ou une neuropathie sensorimotrice. La fréquence rapportée des mutations du gène SPG7 varie selon les études de 1,5% à 12%, principalement selon les critères d'inclusion. Si jusqu'à présent les différentes études rapportant des mutations du gène SPG7 témoignaient d'une transmission autosomique récessive de la maladie, de récentes publications suggèrent également que cette pathologie pourrait se transmettre sur le mode autosomique dominant. Nous rapportons ici le cas de 3 familles pour lesquelles les explorations génétiques réalisées dans notre laboratoire suggèrent un mode de transmission autosomique dominant de paraplégie spastique héréditaire liée au gène SPG7. La première famille comporte trois individus atteints, une mère et ses deux fils. L'étude du gène SPG7 dans cette famille montre que la mère est hétérozygote composite pour deux mutations rapportées précédemment dans la littérature (c.1454\_1462del et c.1529C>T), chacune ayant été transmise à l'un de ses fils. La seconde famille comporte trois individus atteints, deux sœurs et leur tante (non testée). L'étude du gène SPG7 pour cette famille rapporte la présence d'une mutation homozygote c.1457G>A chez la première sœur, présente à l'état hétérozygote chez la seconde. La troisième famille concerne une fratrie de 9 frères et sœurs, 4 étant atteints. L'étude du gène SPG7 rapporte la présence de la mutation c.1529C>T à l'état homozygote chez 3 individus atteints, et à l'état hétérozygote chez un individu atteint. Deux individus non atteints portent également cette mutation à l'état hétérozygote.

**Mots-clés :** Paraplégies spastiques héréditaires, SPG7, Transmission autosomique dominante



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D173/#597

### Description de cinq nouveaux patients atteints de syndrome de Schinzel-Giedion avec mutation dans le gène SETBP1. Nouveaux éléments concernant le phénotype neuroradiologique.

Sandra Whalen (1), Vanesa López-González (2), Anne Dieux (3), Sophie Julia (4), Delphine Héron (5), Catherine Garel (6), Anne Legall (7), Diana Rodriguez (8), Lydie Burglen (9)

1. UF de Génétique Clinique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Unidad de Genética Médica. Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, Espagne
3. Service de génétique clinique Guy Fontaine - CLAD NdF, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
5. UF de Génétique Médicale, Département de Génétique, Centre de Référence Déficiences intellectuelles de causes rares, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Service de Radiologie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
7. Service de Génétique Médicale, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
8. Service de Neuropédiatrie, Centre de Référence malformations et maladies congénitales du cervelet, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
9. Service de Génétique Médicale, Centre de Référence malformations et maladies congénitales du cervelet, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

**Auteur correspondant :** Whalen Sandra (sandra.whalen.aphp@gmail.com)

Le syndrome de Schinzel-Giedion, décrit pour la première fois en 1979, est caractérisé par une dysmorphie faciale typique, un retard de développement sévère, des malformations viscérales (cardiaques, urogénitales et squelettiques). Le décès survient le plus souvent dans la petite enfance. Pendant la grossesse un hydramnios ou une hydronéphrose sont souvent présents. Une détresse respiratoire néonatale est fréquente. La dysmorphie faciale comporte une dolichocéphalie, un grand front, un hypertélorisme, une hypoplasie de l'étage moyen, des oreilles dysplasiques, des narines antéversées, un hirsutisme. Les anomalies squelettiques comportent une synchondrose occipitale et un retard/absence d'ossification des os du pubis. Les anomalies uro-génitales sont une hydronéphrose et, chez les garçons micropénis et cryptorchidie et, chez les filles une hypoplasie des grandes lèvres. Les malformations cardiaques sont souvent mineures. Certains patients ont présenté une pathologie tumorale (tumeur neuroendocrine primitive en particulier). Sur le plan neurologique, il existe un retard de développement sévère avec hypotonie axiale et hypertonie périphérique, parfois une microcéphalie. Une épilepsie est fréquente. Les malformations cérébrales rapportées sont une ventriculomégalie, un corps calleux fin/absent, une atrophie corticale. Des anomalies de gyration ont été décrites chez 4 patients et un pont hypoplasique/atrophique dans 2 cas.

En 2010, le gène SETBP1 a été identifié comme responsable du syndrome de Schinzel-Giedion, à l'aide de la technique d'exome. Les mutations sont des faux-sens de novo, dont certaines sont récurrentes, toutes localisées au niveau du domaine homologue à l'oncogène SKI.

Nous présentons 5 nouveaux patients (2 filles et 3 garçons) atteints du syndrome de Schinzel-Giedion avec mutation de novo dans SETBP1. Deux mutations ont été précédemment décrites (c.2602G>A, c.2608G>A) et 3 autres sont nouvelles (c.2607C>A, c.2608G>T, c.2606G>C). Des anomalies anténatales étaient présentes dans tous les cas (RCIU, hydronéphrose, dilatation ventriculaire). Tous ont une dysmorphie faciale typique, un retard de développement sévère, une épilepsie et des anomalies des organes génitaux. Une hydronéphrose est présente chez 4 patients, et la patiente restante a une hypoplasie des bassinets et des lithiases coralliformes avec infections récurrentes. L'IRM cérébrale montre des anomalies constantes du corps calleux (fin ou absent), et pour certains atrophie corticale, anomalie de gyration et ventriculomégalie. Chez 4/5 patients des anomalies de la fosse postérieure sont également décrites (méga-

grande citerne cérébelleuse, cervelet hypoplasique, anomalie du tronc).

Ces nouveaux cas permettent d'enrichir le spectre des malformations cérébrales, avec en particulier des anomalies de la fosse postérieure, encore peu décrites à ce jour.

Les trois nouvelles mutations, comme toutes les mutations décrites à ce jour sont localisées dans le hot spot mutationnel connu.

**Mots-clés :** syndrome de Schinzel-Giedion, gène SETBP1, phénotype neuroradiologique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D174/#600

### Caractérisation de mutations d'épissage dans les dysferlinopathies

Virginie Kergourlay (1), Martin Krahn (2), Gaëlle Blandin (3), Christophe Bérout (3), Florian Barthélémy (1), Pascaline Gaildrat (4), Nicolas Lévy (5), Marc Bartoli (2)

1. INSERM UMR\_S 910 GMGF, Eq. Myologie Translationnelle, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. INSERM UMR\_S 910 GMGF, Eq. Myologie Translationnelle - Département de Génétique Médicale, Aix Marseille Université - APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
3. INSERM UMR\_S 910 GMGF, Eq. Génétique et Bioinformatique, Aix Marseille Université, Marseille, France
4. Inserm U1079 - Institut de recherche et d'innovation en biomédecine, Université de Rouen, Rouen, France
5. INSERM UMR\_S 910 GMGF, Eq. Myologie Translationnelle - AP-HM, Département de Génétique Médicale, Aix Marseille Université - Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Bartoli Marc (marc.bartoli@univ-amu.fr)

L'interprétation du caractère délétère des mutations faux sens, silencieuse et intronique est un challenge majeur dans le diagnostic des maladies génétiques. Ces mutations peuvent en effet affecter l'épissage en modifiant ou créant de nouveaux sites consensus ou des sites régulateurs. Les dysferlinopathies sont des dystrophies musculaires autosomiques récessives causées par des mutations dans le gène DYSF. Le gène DYSF est un grand gène, il s'étend sur plus de 230kB d'ADN génomique et a une séquence codante de 6243pb. Ce gène code pour la dysferline, protéine transmembranaire impliquée dans le phénomène de réparation membranaire et la fusion des myoblastes avec les myotubes. Nous avons appliqué un test fonctionnel pour les dysferlinopathies, afin d'avoir un outil permettant de déterminer l'impact des mutations sur l'épissage. Ce test fonctionnel est basé sur l'utilisation d'un minigène qui mime le mécanisme physiologique d'épissage. Il consiste à venir intégrer l'exon à étudier, ainsi que ses régions introniques bordantes, dans un minigène permettant au mécanisme d'épissage de se produire. Nous avons ainsi montré que plusieurs mutations se trouvant dans des sites donneurs en +1 et +2 entraînent systématiquement le saut de l'exon en amont. Nous avons aussi montré qu'une mutation dans un site accepteur entraîne un saut de l'exon, mais de manière plus faible que celle observée pour les sites donneurs. De plus, une autre mutation dans un site accepteur abolit ce site avec pour conséquence l'utilisation de deux autres sites accepteurs, entraînant soit une délétion soit une insertion. Nous avons confirmé qu'une mutation intronique située en -33 entraîne le saut de cet exon, en modifiant le site de branchement du lariat, mais entraîne également une insertion d'une partie de l'intron. Nous avons également montré qu'une mutation faux sens crée un nouveau site donneur d'épissage, avec pour conséquence une délétion provoquant un décalage du cadre de lecture. Enfin, nous avons montré que deux mutations faux-sens entraînent le saut d'exon probablement en modifiant des sites ESE. En conclusion, ces travaux nous ont permis de définir le caractère

délétère de certaines mutations qui étaient seulement prédites pour être pathogène.

**Mots-clefs** : mutation, épissage, dysferline

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D175/#601

### Le séquençage à haut débit dans le diagnostic moléculaire pour les maladies neuromusculaires (l'apport des "panels de gènes")

Yves Mathieu (1), Arnaud Lagarde (2), Nadine Carbuccia (2), Jean Pierre Desvignes (3), Mathieu Cerino (1), Svetlana Gorokhova (1), Max Chaffanet (2), Christophe Bérout (3), Nicolas Lévy (4), Martin Krahn (1), Marc Bartoli (1)  
1. INSERM UMR\_S 910 GMGF, Eq. Myologie Translationnelle, Faculté de Médecine de la Timone, Aix Marseille Université, Marseille, France  
2. Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille - UMRU1068 INSERM, Département d'Oncologie Moléculaire, Institut Paoli Calmettes (IPC), Marseille, France  
3. INSERM UMR\_S 910 GMGF, Eq. Génétique et Bioinformatique, Aix Marseille Université, Marseille, France  
4. INSERM UMR\_S 910 GMGF, AP-HM, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant** : Bartoli Marc (marc.bartoli@univ-amu.fr)

Les maladies neuromusculaires sont des maladies hétérogènes sur le plan génétique et clinique, qui provoquent la dégénération progressive des muscles et/ou des nerfs moteurs qui contrôlent les mouvements. La prévalence de ces maladies est très difficile à évaluer, mais l'on estime, en tenant compte de la prévalence des différents types de ces pathologies, qu'autour de 1 sur 1000 personnes pourrait avoir une maladie neuromusculaire héréditaire invalidante dont feraient notamment partie les dystrophies musculaires de Duchenne/Becker (DMD/DMB), les dystrophies musculaires des ceintures (LGMD) ainsi que les dystrophies musculaires congénitales (CMD). Le large spectre mutationnel et le taux d'identification de mutations incomplet, en lien avec l'hétérogénéité génétique et allélique de ces pathologies, constituent une difficulté au quotidien et nécessitent une expertise adaptée. Les stratégies d'analyse ciblée « gène par gène » avec les technologies « classiques », et notamment le séquençage Sanger impliquent des délais longs de la procédure de diagnostic moléculaire, de plusieurs semaines/mois selon les gènes, et des situations souvent non concluantes, ce qui peut avoir un impact négatif sur la prise en charge adéquate des patients.

Pour permettre une analyse génétique à plus grande échelle nous développons actuellement une approche de séquençage de nouvelle génération (NGS) ciblant un panel d'exons de 299 gènes impliqués dans des maladies neuromusculaires, correspondant à une région d'intérêt de 3Mbp. Le système Haloplex® d'Agilent® a été choisi pour la création de bibliothèques que nous séquençons sur un PGM® Ion Torrent® de LifeTechnologies®. Jusqu'à présent 10 ADN de patients ont été séquençés. Deux bibliothèques d'ADN de patients sont chargées par puce 318v2. En moyenne, 87.8% des puits sont chargés, nous obtenons un taux de polyclonalité de 15.4% (4-26%), 0.97Gbp séquençés avec une lecture des fragments générés (>7.3 millions à 136bp en moyenne) lisibles à 73.6% (69-81%). En terme de profondeur nous avons une moyenne de 156x/gène et une couverture par exon à 99.8% à >1x ou de 98.2% à >20x. Grâce à ces résultats nous avons pu confirmer le diagnostic moléculaire pour sept patients sur neuf dont les mutations étaient connues (DYSF et CAPN3). Nous avons aussi diagnostiqué une CMD due à des mutations dans le gène LAMA2, et cela un mois après la consultation alors que cela aurait pris plusieurs mois en séquençage classique. Pour les deux autres patients testés l'absence de confirmation peut s'expliquer par une

couverture trop faible de la zone d'intérêt pour l'une et par une délétion/insertion de taille importante pour l'autre. Ce travail démontre la faisabilité de ce type d'approche qui devra être comparée (couverture, reproductibilité, facilité d'analyse, coût...) à l'approche de séquençage de l'exome. Ce projet bénéficie d'un financement dans le cadre du projet européen Neuromics.

**Mots-clefs** : Séquençage haut débit (NGS), Maladies Neuromusculaires (NMD), Diagnostic moléculaire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D176/#602

### Retard psychomoteur et anémie de Blackfan Diamond: un nouveau cas de délétion 15q25.2

Estelle Colin (1), Agnès Guichet (1), Aurélie Donzeau (2), Alban Ziegler (1), Magalie Barth (1), Isabelle Pellier (2), Dominique Bonneau (1)  
1. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France  
2. Service de Pédiatrie, CHU Angers, Angers, France

**Auteur correspondant** : Colin Estelle (escolin@chu-angers.fr)

La microdélétion 15q25.2 a peu été rapportée dans la littérature. En effet, seulement 10 cas ont été publiés. Cette microdélétion est décrite comme étant un syndrome émergent caractérisé par un retard neurodéveloppemental, une dysmorphie et des malformations congénitales.

La région d'intérêt minimale a été définie par Palumbo et al en 2012 et les délétions distales ont été associées à des troubles neuropsychiatriques tandis que les délétions proximales ont été associées à un risque accru de malformations à type d'hernie diaphragmatique et d'anémie de Blackfan Diamond.

Nous rapportons le cas d'un patient présentant une délétion 15q25.2 de type proximale, dans la région d'intérêt minimale, qui présente un retard neurodéveloppemental modéré, une dysmorphie, des malformations des extrémités et une anémie de Blackfan Diamond. Nous discutons la corrélation génotype-phénotype, et en particulier le diagnostic d'anémie de Blackfan Diamond dans les délétions proximales 15q25.2, avec les cas rapportés dans la littérature.

**Mots-clefs** : Délétion 15q25.2, Retard neurodéveloppemental, Anémie Blackfan Diamond

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D177/#604

### Le Syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SSGB): à propos d'un cas Tunisien

Faouzi MAAZOU (1), Ikhlas BEN AYED (1), Marie-Pierre MOIZARD (2), Lilia KRAOUA (1), Madiha TRABELSI (1), Ines OUERTANI (1), Rim MEDDEB (1), Ridha MRAD (1), Annick TOUTAIN (2), Habiba CHAABOUNI (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, tunis, Tunisie

2. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France

**Auteur correspondant** : Dr MAAZOU Faouzi (f.maazoul@yahoo.fr)

Il s'agit d'un syndrome rare, décrit en 1988. Il associe une croissance pré et postnatale excessive, une dysmorphie, des malformations viscérales et un risque tumoral élevé.

Nous rapportons l'observation d'un garçon adressé à l'âge de 3 ans pour une instabilité psychomotrice et un retard du langage. Il est issu de parents jeunes non apparentés. L'enquête génétique est négative. Sa grossesse s'est compliquée d'un hydramnios et d'une dilatation pyelocalicielle. Son caryotype est normal, 46, XY. Il a été réalisé en prénatal, sur ces signes échographiques.

Le développement psychomoteur de cet enfant est caractérisé par un retard sévère du langage, des troubles du comportement à type d'hyperactivité, d'agressivité, et de troubles du sommeil avec des réveils nocturnes. Il existe un épisode convulsif à 2 ans à type d'absences.

L'examen clinique à 3 ans objective une avance de la croissance, des traits grossiers, surtout une grande bouche, des lèvres charnues, une macroglossie et un sillon médian de la lèvre inférieure. Il existe une hépatosplénomégalie et des hernies inguinales et ombilicale.

Les explorations para cliniques réalisées sont négatives (Imagerie cérébrale, bilan osseux, dépistage du syndrome X fragile, et recherche de mucopolysaccharides dans les urines).

Le tableau clinique est donc celui d'un syndrome associant des troubles du comportement, une avance de la croissance, des traits grossiers et une viscéromégalie. Le diagnostic du SGBS est posé. Il est confirmé par l'étude en biologie moléculaire qui retrouve une délétion des exons 6 à 8 du gène GPC3.

Ce syndrome est transmis selon le mode récessif lié à l'X. Il est du à des mutations du gène Glypican 3 (GPC3) localisé en Xq26. La protéine GPC3 interagit avec IGF2 (insulin-like growth factor 2) au niveau de la membrane cellulaire. Son absence augmente l'IGF2 disponible.

Une surveillance étroite de ces enfants est obligatoire vu le risque tumoral élevé.

Le conseil génétique dépend du profil de la mère (hétérozygote ou non) et du risque du mosaïcisme germlinal. Le diagnostic prénatal est proposé par analyse moléculaire quand une mutation a précédemment été identifiée chez un cas index. En l'absence d'antécédents familiaux, le diagnostic peut seulement être suggéré durant la grossesse devant des anomalies échographiques telles qu'un hydramnios ou une macrosomie.

**Mots-clefs** : anomalie du développement, Risque tumoral, conseil génétique et diagnostic prénatal

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D178/#612

### EXOSC3, un nouveau gène de maladie de la corne antérieure avec atrophie cérébelleuse isolée

marlene Rio (1), Nathalie Boddaert (2), Vassili Valayanopoulos (3), Pascale De Lonlay (4), Isabelle Desguerre (5), Arnold Munnich (6), Claude Besmond (7)

1. service de Génétique, hôpital Necker, paris, France

2. service de Radiologie, hôpital Necker, Paris, France

3. Maladies métaboliques, hôpital Necker, Paris, France

4. Maladies métaboliques, hôpital Necker, paris, France

5. Service de neuropédiatrie, hôpital Necker, Paris, France

6. Service de Génétique, hôpital Necker, Paris, France

7. INSERM 781, hôpital Necker, paris, France

**Auteur correspondant** : rio marlene (marlene.rio@nck.aphp.fr)

L'hypoplasie pontocérébelleuse de type 1 (PCH1) se caractérise par l'association d'une atteinte de la corne antérieure de la moelle et d'une hypoplasie du cervelet et du tronc cérébral. Selon la description originale, la maladie se manifeste dès la période néonatale par une insuffisance respiratoire, des contractures distales fréquentes et une atteinte de la corne antérieure, et est fatale dans la première année de vie. Récemment des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites du gène EXOSC3 ont été rapportées comme la cause majeure de PCH1. EXOSC3 code pour un composant non catalytique de l'exosome, complexe comportant une activité 3'-5' exoribonucléasique jouant un rôle dans de nombreuses étapes du processing et la dégradation des ARNm. Il s'avère que le spectre clinique et radiologique associé aux mutations de ce gène est variable. Il a notamment été rapporté des patients porteurs de la mutation homozygote c.395A>C avec une symptomatologie moins sévère et une survie prolongée et une atteinte radiologique du tronc de degré variable. Nous rapportons trois patients non apparentés, et nés de parents non apparentés, porteurs de la même mutation homozygote c.395A>C. Les premiers symptômes de la maladie se sont manifestés dès le premier de mois de vie par une hypotonie sévère. L'évolution a été marquée par une hypotonie persistante et importante sans aucune acquisition motrice ni acquisition du langage. Le premier patient, âgé de 6 ans et demi a une hypotonie majeure, un syndrome pyramidal des membres inférieurs, une apraxie oculomotrice. Le deuxième patient, décédé à l'âge de 2 ans, avait une hypotonie axiale et périphérique majeure avec aspect paralytique des 4 extrémités. Le troisième patient est âgé de 6 ans, et a une hypotonie axiale importante avec des mouvements spontanés réduits, une quadriplégie spastique et des pouces adductus. Tous ont des rythmes rapides à l'EEG sans épilepsie associée, et à l'électromyogramme des signes de neuropathie axonale. A l'IRM cérébrale, il existe une atrophie cérébelleuse isolée sans atteinte du tronc cérébral ou de la protubérance. L'étude de nos patients et de ceux de la littérature permet de préciser le phénotype associé aux mutations du gène EXOSC3 et plus particulièrement à la mutation homozygote c.395A>C. Il s'agit d'un tableau clinique et radiologique reconnaissable avec une atteinte neurologique avec hypotonie majeure sans acquisition motrice ni du langage, spasticité, rythmes rapides, atteinte de la corne antérieure et atrophie cérébelleuse isolée. Ces données suggèrent que la mutation c.395A>C n'est pas toujours associée à une survie prolongée et peut se manifester sur le plan radiologique par une atrophie cérébelleuse isolée. L'étude du gène EXOSC3, avec recherche de la mutation c.395A>C de première intention, doit donc être proposée chez des patients avec atteinte de la corne antérieure et une atrophie cérébelleuse isolée.

**Mots-clefs** : hypoplasie ponto-cérébelleuse, atrophie cérébelleuse, corne antérieure

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D179/#613

### Phénotype de la maladie de Huntington non liée à des mutations du gène HTT

Christelle Tesson (1), Louise Laure Mariani (2), Perrine Charles (2), Cécile Cazeneuve (3), Danielle Seilhean (4), Valérie Hahn-Barma (5), Leorah Freeman (5), David Grabli (6), Emmanuel Roze (5), François Salachas (5), Sandrine Noël (3), Jean-Noël Peuvion (3), Claude Jardel (3), Thomas Meitinger (3), Anne-Catherine Bachoud-Lévi (7), Giovanni Stevanin (8), Alexandra Durr (9)

1. ICM -Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, NEB, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6) / Laboratoire de Neurogenetique de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, ICM, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Fédération de Genetique, APHP / Department de neurologie, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Fédération de Genetique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Neuropathologie, APHP / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, NEB, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Department de neurologie, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Department de neurologie, APHP / Neuropathologie, APHP / ICM -Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, NEB, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Service de Neurologie, APHP, Hopital Henri Mondor, Creteil, France
8. Fédération de Genetique, APHP / ICM -Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, NEB, Université Pierre et Marie Curie / Laboratoire de Neurogenetique de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, ICM, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Fédération de Genetique, APHP / ICM -Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, NEB, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Durr Alexandra (alexandra.durr@upmc.fr)

La maladie de Huntington (MH) est une maladie neurologique et psychiatrique rare caractérisée par des mouvements anormaux (chorée, dystonie), des troubles comportementaux et d'une atteinte cognitive. La vaste majorité des patients portent une expansion pathologique (>35) de triplets CAG dans le gène HTT codant pour la protéine huntingtine. Moins fréquemment, des mutations dans les gènes JPH3, TBP/HDL4 et ATN1 ont été rapportées, on parle alors de MH-like.

Au sein du centre de référence national pour la Maladie de Huntington, nous avons analysé une cohorte de 226 patients présentant un phénotype caractéristique. Dans cette cohorte 28 patients (12%) ne présentaient pas de mutation du gène HTT. Nous avons recherché les autres causes acquises de chorée et des mutations dans les autres gènes connus.

Nous avons pu identifier la cause pour 9 patients/28 (32%)

- 3 patients avaient une expansion pathologique de répétitions CTG dans le gène JPH3, dont pour la première fois un patient d'origine caucasienne
- 1 patient avait un syndrome des antiphospholipides
- 1 patient avait une avitaminose B12 due à la maladie de Biermer
- 4 patients avaient imagerie cérébrale (IRM) témoignant d'une accumulation cérébrale de métaux (Neurodegeneration with brain iron accumulation or NBIA) sans mutations dans FTL, PLA2G6 et C19ORF12.

Chez un patient une délétion dans le gène HTT a été trouvée dont la signification est inconnue. Nous avons réalisé un séquençage de l'exome pour 4 patients pour lesquels la cause de la maladie restait inexplicée, dont 3 des patients présentant une NBIA avec l'hypothèse d'une mutation dans un gène commun. Même si nous n'avons pas pu identifier de variations dans un gène commun, nous avons identifié des variations potentiellement pathogènes dans trois gènes communs à au moins 2 individus (LAMA3, DNAH10, HSPA1L). Le 4ème cas décédé, présentait un phénotype MH typique au début de la maladie,

avec l'apparition plus tardive d'une atteinte du motoneurone. Ce patient avait une histoire familiale de troubles cognitifs chez son frère et son père. L'examen neuropathologique montrait une perte neuronale dans les ganglions de la base (Gpi and STN) sans inclusions (ubiquitine, IC2, TPD43, FUS). La concentration de zinc musculaire était 10 fois supérieure à la normale. Nous avons utilisé un logiciel de priorisation (ENDEAVOUR) qui a fait ressortir des variations dans des gènes potentiellement intéressants.

En conclusion, la MH non mutée dans le gène majeure HTT (MH-like) n'est pas rares (12%) et doit être prise en compte pour le conseil génétique. Nous rapportons la première mutation de JPH3 chez un patient d'origine caucasienne. Enfin l'analyse par séquençage de l'exome est en cours avec des candidats à explorer.

**Mots-clefs :** Maladie de Huntington, HTT, NBIA, SLA

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D180/#614

### Identification d'une nouvelle mutation, dans le gène MT-ND5, responsable d'une forme isolée d'intolérance musculaire à l'effort

LINDA MOUTHON (1)

1. GENETIQUE, CHU NICE, NICE, France

**Auteur correspondant :** Paquis-Flucklinger Véronique (Veronique.Paquis@unice.fr)

L'intolérance à l'effort isolée ou associée à une atteinte multi systémique, est un signe évocateur de myopathies métaboliques, et notamment de mitochondriopathies. Pour les formes isolées d'intolérance à l'effort, plusieurs mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ont été décrites aussi bien sur des gènes d'ARN de transfert que sur des gènes codant pour des sous-unités des complexes I, III et IV de la chaîne respiratoire. Une seule mutation dans le gène MT-ND5 (NADH dehydrogènesae 5 mitochondriale), codant pour une protéine du complexe I, a été décrite à ce jour comme étant responsable d'un tel tableau clinique.

Nous rapportons une nouvelle mutation dans le gène MT-ND5 chez une patiente avec une intolérance à l'effort isolée. Cette patiente, âgée de 44 ans, présentait un tableau non évolutif d'intolérance à l'effort isolée depuis l'âge de 16 ans. L'examen clinique ne retrouvait pas de signe clinique particulier.

Les explorations suivantes ont été réalisées à partir d'une biopsie musculaire. L'examen anatomopathologique a observé de nombreux agrégats mitochondriaux en périphérie des fibres musculaires, sans véritable fibre ragged-red, ni de fibre Cox-négative. Un déficit en complexe I de la chaîne respiratoire a été identifié en enzymologie par l'analyse spectrophotométrique, confirmé par l'absence d'assemblage du complexe I en BN-PAGE. La recherche de mutation de l'ADNmt par la technique Surveyor a permis d'identifier une délétion hétéroplasmique d'une thymidine en position 12414 dans le gène MT-ND5. Cette délétion conduit à un codon stop prématuré de la protéine ND5 (p.N27Tfs\*10). Par PCR-fluorescente semi-quantitative, nous avons quantifié le taux d'hétéroplasmie de cette mutation dans les différents tissus de la patiente. La forme délétée est très majoritairement présente dans le muscle. A l'inverse, elle est absente dans le sang et présente à un très faible taux dans les fibroblastes et le frottis buccal. Ces derniers résultats sont un argument supplémentaire en faveur de la pathogénicité de cette mutation.

Nous décrivons donc une nouvelle mutation pathogène dans le gène MT-ND5, responsable d'une forme isolée d'intolérance d'effort. Nous soulignons l'importance d'une analyse exhaustive de l'ADNmt à partir du tissu atteint du fait de la grande variabilité d'hétéroplasmie inter-tissulaire dans les maladies mitochondriales.

**Mots-clefs :** INTOLERANCE ISOLEE EFFORT, MUTATION MITOCHONDRIALE, MT-ND5



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D181/#625

### Une nouvelle mutation du gène **NDUFS4** responsable d'un syndrome de Leigh adulte atypique et déficit isolé du complexe I identifiée par puce de recapture mitochondriale ciblée

Céline Bris (1,2), Anne-Sophie Lebre(3), Valérie Desquiret-Dumas (1,2), Naïg Gueguen (1,2), Thibaut Lebouvier (4), Mathieu Sevin-Allouet (4), Magali Barth (1), Patrizia Amati-Bonneau (1,2), Dominique Bonneau (1,2), Pascal Reynier (1,2), Vincent Procaccio (1,2)

1. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers
2. Laboratoire de Biologie Mitochondriale et NeuroVasculaire Intégrée, UMR INSERM U1083-CNRS 6214, Université d'Angers
3. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, et Inserm U781, Paris, France
4. Département de Neurologie Hôpital Laënnec CHU Nantes

**Auteur correspondant :** Bris Céline (cebris@chu-angers.fr)

Les déficits isolés du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale sont à l'origine d'atteintes cliniques très variables allant d'une atteinte néonatale sévère à des pathologies plurisystémiques. Le syndrome de Leigh (SL) est une maladie neurodégénérative de la petite enfance. Ce syndrome se caractérise par des signes neurologiques avec hypotonie, retard du développement, dystonie, atteinte oculomotrice ou atteintes du tronc cérébral. La symptomatologie débute souvent après un développement normal de quelques mois ou années.

L'anomalie génétique peut être portée par l'ADN mitochondrial (ADNmt) ou par l'ADN nucléaire, rendant compte de l'hétérogénéité génétique du SL et des différents modes de transmission (maternel, lié à l'X, ou autosomal récessif).

Compte tenu de la forte hétérogénéité des maladies mitochondriales, l'analyse par séquençage haut débit de gènes nucléaires, connus comme intervenant dans la structure ou assemblage des différents complexes de la chaîne respiratoire, apparaît être la meilleure stratégie pour identifier l'origine de ce déficit.

Nous rapportons le cas d'une patiente de 25 ans, née d'un couple consanguin, débutant à l'âge de 12 ans par un syndrome extrapyramidal, ainsi que un syndrome dystonique prédominant dans les régions craniofaciale et brachiale. L'IRM cérébrale met en évidence des lésions bilatérales symétriques des putamen évocatrices d'un SL. Sur le plan biochimique, l'activité du complexe I est à la limite de la normale sur muscle et fibroblastes. L'analyse de l'assemblage du complexe I par BN-Page, objective une bande de désassemblage de 830 kDa mais sans altération majeure de l'assemblage total du complexe I. Le séquençage complet de l'ADNmt est normal.

Nous avons mis en place une recapture ciblée de 195 gènes mitochondriaux d'origine nucléaire de la chaîne respiratoire (introns/exons + 5'/3'UTR), dont 85 gènes impliqués dans la genèse du complexe I, à l'aide de la technologie Sureselect (Agilent) et séquençage haut débit sur séquenceur Illumina.

L'analyse a permis l'identification d'un nouveau variant faux-sens c.369C>A (p.Asn123Lys) du gène **NDUFS4** à l'état homozygote, absent des bases de données, résultat confirmé par séquençage Sanger. Le gène **NDUFS4** code pour une protéine de 18kDa qui intervient lors de la phase finale du processus d'assemblage du complexe I. A ce jour, des mutations de **NDUFS4** ont été décrites chez des patients présentant des formes sévères de SL d'apparition précoce en opposition avec le tableau clinique atypique de la patiente (âge, signes cliniques, activité et assemblage du complexe I). Afin de statuer sur le caractère délétère de ce nouveau variant, l'analyse fonctionnelle est en cours par transduction lentivirale d'une lignée fibroblaste témoin.

Ces résultats mettent en valeur l'intérêt de la stratégie de recapture mitochondriale ciblée pour répondre aux difficultés diagnostiques des maladies mitochondriales inhérentes à la très forte hétérogénéité de ces pathologies.

**Mots-clefs :** Maladie mitochondriale, Complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale, Puce de recapture ciblée

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D182/#628

### Identification d'une mutation tronquante homozygote du gène **FIBP** par séquençage d'exome à l'origine d'un nouveau syndrome polymalformatif avec macrocéphalie, colobome irien et troubles des apprentissages

Damien Picot (1), Yannis Duffourd (1), Laurence Duplomb-Jego (1), Laurence Faivre (1), Thevenon Julien (1), Delphine Minot (1), Jean-Baptiste Rivière (1), Judith St-Onge (1), Béatrice Terriat (1), Christel Thauvin-Robinet (1), Pierre Vabres (1)

1. Génétique des Anomalies de Développement EA4271, FHU TRANSLAD département de génétique, CHU de Dijon, Dijon, France

**Auteur correspondant :** Picot Damien (picot.damien@yahoo.fr)

Un homme de 22 ans, le 2ème enfant d'une fratrie de 4, issu de parents consanguins, a été adressé en consultation de génétique pour l'association d'un nouveau syndrome malformatif associant grande taille avec habitus longiligne, macrocranie congénitale, microcranie bilatérale associée à un colobome irien bilatéral, communication interventriculaire, prolapsus valvulaire mitral, insuffisance veineuse avec varices opérées à l'âge de 17 ans, hernie inguinale droite opérée à l'âge de 21 ans, uretère gauche bifide, anémie avec neutropénie modérée, scoliose thoracique modérée, des pouces larges et dysmorphie faciale. Il présente par ailleurs des troubles des apprentissages avec ralentissement idéomoteur, dysfonctionnement attentionnel et exécutif, difficultés de mémorisation à court terme. Son IRM cérébrale montre une discrète diminution de la taille de la fosse cérébrale postérieure et un épaississement osseux occipital prédominant au niveau de la protubérance occipitale interne.

Une analyse d'exome a été réalisée et analysée dans l'hypothèse de mutations homozygotes devant la consanguinité parentale. Parmi les variants rares, une unique mutation homozygote tronquante p.Gln218\* du gène **FIBP** (acidic fibroblast growth factor binding protein) a été mise en évidence. Cette mutation a été retrouvée en séquençage classique. Outre les arguments génétiques, des arguments cellulaires soutiennent la pathogénicité des mutations de **FIBP** dans le phénotype du patient : i) l'expression du transcrite de **FIBP** est indétectable sur les fibroblastes cultivés du patient par une analyse en RT-qPCR comparé à des fibroblastes témoins; ii) la voie de signalisation intracellulaire des FGF est dérégulée et montre chez le patient un excès de protéine FGF-1 en Western blot ; iii) les fibroblastes du patient ont une capacité de prolifération plus importante que des fibroblastes témoins (démonstré par un test au XTT et un marquage au Ki67). De plus, les données de la littérature suggèrent que **FIBP** est fortement exprimé dans le système nerveux central, l'œil, le cœur et le rein, siège de manifestations cliniques.

En conclusion, le tableau clinique présenté par le patient peut être expliqué par une dérégulation de la voie de signalisation FGF, secondaire à une mutation tronquante homozygote du gène **FIBP** et responsable d'un excès de prolifération cellulaire.

**Mots-clefs :** **FIBP** (acidic fibroblast growth factor binding protein), Exome, syndrome malformatif

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D183/#629

### Phénotype radiologique des déficits de la biosynthèse du cholestérol.

Massimiliano Rossi (1,2), Christine Hall (3), Raymonde Bouvier (4), Sophie Collardeau-Frachon (4), Frédérique Le Breton (4), Martine Bucourt (5), Marie Pierre Cordier (1), Christine Vianey-Saban (6), Giancarlo Parenti (7), Generoso Andria (7), Martine Le Merrer (8), Patrick Ederly (1,2), Amaka Offiah (9)

1. Centre de Référence des Anomalies du Développement, Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France.
2. INSERM U1028 UMR CNRS 5292, UCBL, CRNL TIGER Team, Lyon, France
3. Retired from Department of Radiology, Great Ormond Street Hospital, London, UK.
4. Service d'Anatomie Pathologique, Hospices Civils de Lyon, France.
5. Unité Fonctionnelle de Fœtopathologie, Hôpital Jean Verdier, AP-HP, Bondy, France
6. Service Maladies héréditaires du métabolisme et dépistage néonatal, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
7. Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione di Pediatria, Università Federico II, Napoli, Italie.
8. Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
9. Radiology Department, Children's Hospital, Sheffield, UK

**Auteur correspondant :** Rossi Massimiliano (massimiliano.rossi01@chu-lyon.fr)

Les déficits de la biosynthèse post-squalène du cholestérol (DBC) sont un groupe de maladies héréditaires du métabolisme caractérisées par des anomalies du développement incluant une atteinte osseuse. Le DBC le mieux caractérisé est le syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLOS). Neuf autres pathologies ont été décrites : le syndrome d'Antley-Bixler récessif autosomique, la dysplasie de Greenberg, le syndrome de Conradi-Hunermann, le déficit hypomorphe d'EBP, les syndromes CHILD et CK, le déficit de SC4MOL, la desmostérolase, la lathostérolase.

Nous rapportons le phénotype radiologique de 13 nouveaux patients atteints de DBC ; nous avons également revu la littérature concernant l'atteinte squelettique associée à ce groupe de pathologies.

Les DBC sont caractérisés par une atteinte squelettique spécifique incluant des signes de chondrodysplasie et des malformations osseuses. Un profil commun d'anomalies des membres est reconnaissable, incluant une polydactylie des 4 membres typiquement post-axiale et rarement interdigitale, une possible brachydactylie et une syndactylie des orteils.

La chondrodysplasie ponctuée (CDP) fait partie du phénotype de la dysplasie de Greenberg, les syndromes CHILD et Conradi-Hunermann et le déficit hypomorphe d'EBP. L'association entre SLOS et CDP, initialement rapportée dans la littérature, n'a pas été confirmée à ce jour. La CDP a été rapportée dans d'autres pathologies constitutionnelles ou acquises (anomalies chromosomiques, anomalies du métabolisme de la vitamine K, maladies auto-immunes maternelles, maladies peroxysomales et lysosomales). Dans le diagnostic différentiel de la CDP, les anomalies du métabolisme du cholestérol doivent être évoquées devant un aspect « mité » des os, une asymétrie corporelle et/ou la présence de malformations évocatrices des membres.

**Mots-clefs :** Cholestérol, Malformations, Chondrodysplasie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D184/#630

### Difficultés diagnostiques du déficit en transporteur de la créatine chez les femmes : à propos d'un cas

Anne Philippe (1), Jean-Paul Bonnefont (2), Allel Chabli (3), Laurence Colleaux (1), Vassili Valayannopoulos (4), Arnold Munnich (1), Nathalie Boddaert (5)

1. INSERM U781 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. INSERM U781 & Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Service de Biochimie B, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Centre de référence pour les maladies métaboliques, Hôpital Necker, Paris, France
5. Radiologie pédiatrique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Philippe Anne (anne.philippe@inserm.fr)

Le déficit en transporteur de la créatine dû à des mutations dans le gène SLC6A8 localisé sur le chromosome X, est sous-diagnostiqué chez les femmes car elles sont le plus souvent pauci-symptomatiques (troubles anxieux, difficultés scolaires etc...). De fait, la plupart des femmes porteuses de mutations du gène SLC6A8 rapportées dans la littérature (93%) sont apparentées à un cas index masculin.

La spectroscopie IRM réalisée au décours d'une IRM cérébrale ou à la suite d'une augmentation de la créatine urinaire est un examen complémentaire clé pour suspecter ce diagnostic chez les femmes: la présence d'un taux abaissé de créatine intracérébrale conduit à séquencer le gène SLC6A8.

Cependant, les conditions de réalisation de la spectroscopie IRM et l'interprétation du taux de créatine intracérébrale diffèrent selon les équipes (localisations cérébrales du volume d'intérêt, choix du contrôle de référence). Le taux de créatine intracérébrale (et des autres métabolites) varie en fonction des régions cérébrales chez les témoins comme chez les femmes hétérozygotes pour SLC6A8. Cependant, quelque soit la localisation cérébrale, il est statistiquement plus bas chez les femmes hétérozygotes que chez les sujets contrôles mais avec un chevauchement entre les 2 groupes conduisant au risque de faux-négatifs. Cette difficulté diagnostique conduit à conseiller le séquençage du gène SLC6A8 chez les filles avec une déficience intellectuelle légère (Van de Kamp & al (2011)).

Nous rapportons le cas d'une femme, mère d'un garçon sévèrement atteint, porteuse d'une mutation SLC6A8 (c.1006\_1008 delAAC) et d'un biais total d'inactivation de l'X en faveur de l'allèle muté dans les leucocytes. La spectroscopie IRM ne montrait pas de diminution du pic de créatine au niveau des noyaux gris centraux par comparaison aux pics de choline et de N-acétylaspartate de la patiente. Nous avons donc refait cet examen en étudiant d'autres localisations des volumes d'intérêts et pu trouver une diminution du taux de créatine dans le cortex cérébral pariétal et dans la substance blanche par comparaison aux pics de choline et de N-acétylaspartate de la patiente.

De même que l'évaluation de la créatine urinaire est améliorée en considérant le rapport créatine/créatinine urinaire plutôt que la concentration de la créatine urinaire seule, la prise en compte des autres métabolites intracérébraux de l'individu étudié semble intéressant pour rechercher un déficit en créatine particulièrement chez les femmes. Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse et optimiser les conditions de la spectroscopie IRM afin d'éviter les faux-négatifs.

Le développement des techniques de séquençage de nouvelle génération ciblant les gènes de déficience intellectuelle facilitera l'approche diagnostique dans l'avenir. Cependant, la confirmation des variants nécessitera une validation fonctionnelle et dans le cas de SLC6A8, la spectroscopie IRM devrait toujours tenir une place importante.

**Mots-clefs :** SLC6A8, spectroscopie IRM, déficit en créatine

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D185/#631

### Variabilité phénotypique du syndrome de Woodhouse-Sakati : revue exhaustive de la littérature

Arthur Sorlin (1), Mikael Agopiantz (2), Pauline Corbonnois (3), Thomas Cuny (2), Georges Weryha (2), Bruno Leheup (4), Céline Bonnet (1), Philippe Jonveaux (1)

1. Laboratoire de Génétique, CHU, Nancy, France
2. Service d'Endocrinologie et de Gynécologie médicale, CHU, Nancy, France
3. Service de Diabétologie, CHU, Nancy, France
4. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHU, Nancy, France

**Auteur correspondant :** SORLIN Arthur (arthur@sorlin.eu)

**Objectif :** Le syndrome de Woodhouse-Sakati (SWS) est une pathologie rare de transmission autosomique récessive responsable d'un tableau polydéficient endocrinien et neurologique survenant à l'adolescence et impliquant le gène DCAF17, dont la variabilité a été rapportée plusieurs fois. L'objectif de ce travail a été d'affiner nos connaissances sur ce phénotype, en colligeant l'ensemble des cas de SWS génétiquement prouvés.

**Matériel et Méthodes :** Revue exhaustive de la littérature utilisant la base de données PUBMED et apport de deux nouveaux cas suivis à Nancy.

**Résultats :** 72 patients issus de 29 familles étiquetés SWS sont identifiés, dont 39 ont fait l'objet d'un diagnostic génétique. Le SWS associe de manière constante un hypogonadisme, une baisse de l'IGF1 et une alopécie fronto-temporale s'installant dans l'enfance. S'ajoute à cette triade une déficience intellectuelle (87%), une surdité (76%), une dystonie (42%, 89% après 25 ans) et enfin un diabète (66%, 96% après 25 ans).

**Discussion :** Les prévalences de la déficience intellectuelle, de la surdité, de la dystonie et du diabète sont plus élevées qu'attendues, puisque ces symptômes concernent de 76% à 96% des patients au delà de l'âge de 25 ans. L'hypogonadisme semble associer une part périphérique ainsi qu'un déficit d'intégration hypothalamique tandis que l'IGF1 basse est le reflet du déficit en stéroïdes sexuels. Cette étude remet en cause l'inconstance du phénotype décrit jusqu'alors en s'affranchissant des principaux écueils par la certitude du diagnostic et l'analyse différenciée en fonction de l'âge des patients.

**Mots-clefs :** Woodhouse-Sakati, Revue, Révision du phénotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D186/#634

### Bases de données de mutations de gènes impliqués dans le syndrome de Marfan et ses pathologies associées : un nouveau venu avec la base UMD de mutations du gène TGFBR1.

Amélie PINARD (1), Arnaud BLANCHARD (1), Nadine HANNA (2), Olivier MILLERON (3), Morgane MILTGEN (1), Laura BARRE (1), Stéphane ZAFFRAN (1), Laurence FAIVRE-OLIVIER (4), Guillaume JONDEAU (3), Catherine BOILEAU (5), Christophe BEROUD (6), Gwenaëlle COLLOD-BEROUD (1)

1. GMGF UMR\_S910, Aix Marseille Université, Inserm, Marseille, France
2. Laboratoire Central de Biochimie d'Endocrinologie et de Génétique moléculaire, AP-HP, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
3. Service Cardiologie et Centre National de Référence pour le syndrome de Marfan et apparentés, AP-HP, Hôpital Bichat, Paris, France
4. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Dijon, Dijon, France
5. U698, Inserm, Paris, France
6. Département de Génétique, AP-HM La Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** COLLOD-BEROUD Gwenaëlle (gwenaelle.collodberoud@inserm.fr)

Avec l'évolution galopante des techniques et l'introduction du NGS dans le cadre du diagnostic, les bases de données de mutation de gènes dits "actionable", facilitant l'analyse des variants identifiés, sont devenues des outils clé pour la médecine de demain. Le syndrome de Marfan et ses pathologies associées (SMPA) font partie de ces maladies pour lesquelles un suivi médical et une médication appropriée peuvent améliorer la survie/qualité de vie des patients. Plusieurs gènes sont actuellement connus pour leur implication dans ces pathologies : les gènes FBN1, TGFBR1, TGFBR2, SMAD3, ACTA2, MYLK, MYH11, TGFB2 et PRKG1. Alors que pour certains, le nombre de mutations décrites est relativement faible, presque 3 000 mutations sont décrites pour FBN1 et rendent l'utilisation d'une base de donnée incontournable.

En 1995, notre équipe a développé un outil de référence : le logiciel UMD (Universal Mutation Database). Cet outil permet de créer une base de données spécifique d'un gène mais également d'analyser et d'interpréter ses données à l'aide d'outils bioinformatiques tels qu'UMD-Predictor (prédiction du caractère pathogène des mutations faux-sens et synonymes) et Human Splicing Finder (impact des mutations sur les signaux d'épissage). Dans le but de collecter de manière exhaustive, de valider et d'annoter les données moléculaires et cliniques des patients présentant un SMPA, des bases de données pour les gènes FBN1 et TGFBR2 ont été créées en 1996 et 2008 respectivement. Elles sont des références au niveau international. Nous présentons ici la base de données du gène TGFBR1 (<http://www.umd.be/TGFBR1/>).

Les mutations de ce gène sont associées à un large spectre clinique comprenant de nombreux syndromes tels que les syndromes de Marfan, Loeys-Dietz, Furlong, Shprintzen-Goldberg ou Ehlers-Danlos vasculaire mais également des formes familiales d'anévrismes de l'aorte thoracique. La base de données collige les données moléculaires et cliniques associées aux mutations du gène TGFBR1 de 67 cas index et 57 apparentés correspondant à l'ensemble des données disponibles dans la littérature. De nombreux outils d'analyses statistiques en font une base de connaissance ("knowledge base"). Elle permet de disposer d'un outil facilitant l'interprétation d'une mutation dans le cadre d'un diagnostic classique mais aussi dans celui de l'analyse des données issues du NGS. En effet, les gènes impliqués dans le SMPA ont été intégrés par le Collège Américain de Génétique Médicale (ACMG) à la liste des gènes "actionable". C'est à dire que, quelle que soit l'indication primaire d'une analyse d'exome, ces gènes doivent être analysés et faire l'objet d'un rendu au patient en cas de découverte positive. Ainsi, ce ne sont plus seulement les experts de ces gènes qui devront les analyser, mais tous les laboratoires réalisant des analyses d'exome. Dans ce contexte, la qualité des bases de données de référence que nous développons prend tout son sens.

**Mots-clefs :** TGFBR1, Base de données, Syndrome de Marfan

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D187/#635

### Rôle de REEP1 (SPG31) dans la fonction énergétique et la structure mitochondriale

Julie Lavie (1), Nadège Bellance (1), Su Melsner (1), Didier Hannequin (2), Stanislas Lyonnet (3), Sylvie Forlani (4), Alexis Brice (4), Giovanni Stevanin (4), Alexandra Dürr (4), Frédéric Darios (4), Cyril Goizet (1), Rodrigue Rossignol (1), Giovanni Bénard (1)

1. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM)- EA 4576, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Neurologie - INSERM U614, CHU Rouen, Rouen, France
3. Institut de Recherche Necker Enfants Malades - INSERM U781, Université Paris-Descartes, Paris, France
4. Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM) - INSERM U975, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Lavie Julie (julie.lavie@u-bordeaux2.fr)

Les mutations dans le gène *reep1* sont associées à la paraplégie spastique héréditaire autosomique et dominante de type 31, SPG31. Dans une étude antérieure, nous avons montré que des fibroblastes et une biopsie de muscle d'un patient porteur d'une mutation hétérozygote non sens de *reep1* (c.106delG ; p.V36SfsX4) révélèrent un défaut de production énergétique mitochondriale ainsi qu'une altération du réseau mitochondrial. Dans de la présente étude, nous avons confirmé une altération de l'architecture et de la fonction mitochondriale sur des fibroblastes de patients SPG31 porteurs de mutations hétérozygotes faux-sens (c.166G>A, p.D56N et c.124T>C, p.W42R, respectivement). De plus, nous avons observé une augmentation du taux d'ADN mitochondrial (d'environ un facteur 3) dans les fibroblastes de patients comparés aux contrôles. Afin d'analyser le rôle de REEP1 dans la physiologie mitochondriale, nous avons réalisé des expériences de surexpression de l'ADNc de *reep1* dans les cellules HeLa révélant des profils de localisations subcellulaires différentes. De façon intéressante, une localisation de la protéine REEP1 à la mitochondrie est associée à une fragmentation de l'organelle. En conclusion, l'ensemble de nos résultats suggèrent un rôle de REEP1 dans la physiologie mitochondriale.

**Mots-clefs :** Paraplégie Spastique Héréditaire (HSP), SPG31, Mitochondrie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D188/#644

### Hérédité digénique et myopathie FSH, le gène SMCHD1 et le locus D4Z4

Armelle Luscan (1), Audrey Briand-Suleau (1), Eric Pasmant (1), Emilie Judéaux (1), Tanya Stojkovic (2), Bruno Eymard (3), Michel Vidaud (1), Marc Jeanpierre (1)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, HUPC, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France
2. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, HUPC, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France ; Institut de myologie, hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France
3. Institut de myologie, hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France

**Auteur correspondant :** luscan armelle (armelleluscan@gmail.com)

La dystrophie musculaire facioscapulo-humérale (FSH) est l'une des dystrophies musculaires les plus fréquentes avec une prévalence estimée à 1/10000. Elle touche initialement les muscles faciaux et scapulaires avec une progression descendante du déficit chez la majorité des patients. Cette dystrophie musculaire est particulière par son caractère asymétrique et sa grande variabilité dans l'âge d'apparition, la sévérité et l'évolution, y compris au sein d'une même famille.

La FSH est la conséquence de l'expression dans le muscle squelettique d'une protéine toxique produite par le rétrogène DUX4 (double homeobox 4) présent dans chacune des répétitions du locus D4Z4, à moins de 50 kb du télomère du chromosome 4q. Un haplotype permissif est nécessaire à l'expression de DUX4 alors stabilisé par un signal de polyadénylation dans le muscle squelettique ("allèles 4qA").

La majorité des patients présentant la forme classique de FSH (ou FSH1) a un nombre réduit de répétitions (une à sept) et la maladie est transmise sur le mode autosomique dominant. Récemment, des mutations du gène SMCHD1 (structural maintenance of chromosomes flexible hinge domain containing 1) ont été décrites chez des patients présentant une décondensation de la chromatine et une hypométhylation du locus D4Z4, ainsi que la région homologue du 10q (FSH2). Le modificateur de chromatine SMCHD1, antérieurement connu pour contribuer à l'inactivation du chromosome X, se lie directement aux répétitions D4Z4 où il est impliqué dans l'établissement et/ou le maintien de la méthylation des cytosines. Chez les patients présentant une FSHD2, la relaxation de la chromatine induit l'expression de DUX4.

Nous avons recherché par séquençage ciblé NGS la présence de mutations de SMCHD1 chez plus de 100 patients présentant un tableau clinique compatible avec la FSH et pour lesquels aucun allèle de moins de sept répétitions de la région D4Z4 n'a été mise en évidence. Des mutations du gène SMCHD1 ont été retrouvées dans 8% de la série initiale, la maladie résultant alors de l'interaction entre le locus D4Z4 et le gène SMCHD1 sur le chromosome 18.

**Mots-clefs :** myopathie, épigénétique, gène modificateur



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D189/#649

### Le syndrome de Marfan néonatal : un exemple de digénisme ?

mathieu barbier (1), nadine hanna (2), mélodie aubart (1), marie-sylvie gross (1), christine muti (3), laurent gouya (3), chantal stheneur (4), bertrand chevalier (4), guillaume jondeau (3), catherine boileau (2)

1. Inserm U698, Hôpital Bichat, Paris, France
2. Biochimie et Génétique moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
3. CNMR Marfan et apparentés, Hôpital Bichat, Paris, France
4. Pédiatrie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France

**Auteur correspondant :** boileau catherine (catherine.boileau@inserm.fr)

Le syndrome de Marfan néonatal (nMFS) est une forme rare et grave du syndrome de mauvais pronostic. L'atteinte est principalement cardiaque avec fuite valvulaire prédominante entraînant rapidement une insuffisance cardiaque congestive. Le faciès est particulier avec un aspect vieilli par excès de peau, les oreilles sont souvent larges et plates. Il existe à la fois une contracture en flexion et une hyper-laxité selon les articulations. Peuvent être associés également un emphysème pulmonaire et une hernie diaphragmatique. Au plan moléculaire, le nMFS est associé à des mutations hétérozygotes et sporadiques plus volontiers localisées entre les exons 24 à 32 du gène FBN1 (« région hot spot néonatal »). Toutefois, des mutations sont aussi retrouvées dans cette région du gène dans des familles présentant une forme classique adulte du syndrome de Marfan (MFS). De façon plus marquante, 2 mutations ont été identifiées tant chez des nMFS que des MFS adultes. La mutation hétérozygote dans le gène FBN1 ne permet donc pas d'expliquer la différence de gravité et de symptomatologie clinique du nMFS par rapport au MFS. Nous avons émis l'hypothèse de l'existence d'un deuxième évènement moléculaire que nous avons recherché par séquençage whole exome réalisé chez un sujet nMFS et ses parents. La méthode a permis de retrouver la mutation sporadique et hétérozygote c.3217G>A, p.Glu1073Lys de l'exon 26 qui avait été identifiée par séquençage Sanger. Une deuxième mutation hétérozygote a été identifiée dans l'exon 26 du gène FBN2 : c.5675A>C, p.Asp1892Ala. Cette mutation, d'origine paternelle, n'a encore jamais été rapportée dans les bases de données (dbSNP, EVS) et son caractère pathogène est hautement probable (ALAMUT, UMD-Predictor) puisqu'elle touche un résidu consensus des domaines cbEGF-like qui intervient dans la liaison de l'ion Ca<sup>2+</sup>. Le gène FBN2 a ensuite été étudié chez 9 proposant nMFS de la série du laboratoire mais aucune mutation n'a été identifiée. Notre étude montre donc que l'hypothèse de l'existence d'un digénisme pour expliquer la sévérité du nMFS est confirmée chez un proposant qui présente une association de deux mutations hétérozygotes dans les gènes FBN1 et FBN2. L'absence de mutation dans le gène FBN2 chez les 9 autres proposant nMFS incite à rechercher d'autres mutations dans l'un des gènes du spectre MFS, dont les gènes TGFBR1 et TGFBR2.

**Mots-clés :** syndrome de Marfan néonatal, digénisme, whole exome

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D190/#651

### Etudes génétiques et fonctionnelles de l'ataxie spastique autosomique récessive de Charlevoix-Saguenay (ARSACS)

Pilliod Julie (1), Lavie Julie (1), Courpy Isabelle (1), Maurat Elise (1), Anheim Matthieu (2), Barth Magalie (3), Guichet Agnes (3), Rooryck-Tambo Caroline (1), Arveiler Benoit (1), Forlani Sylvie (2), Lesne Fabien (2), Mochel Fanny (2), N'Guyen Karine (4), Lesca Gaetan (5), Brice Alexis (2), Lacombe Didier (1), Stevanin Giovanni (1), Durr Alexandra (2), Rossignol Rodrigue (1), Benard Giovanni (1), Goizet Cyril (1).

1. EA4576, Laboratoire MRGM, Bordeaux, France
2. INSERM/UPMC UMR\_S975, Hôpital de la Pitie-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de génétique, CHU, Angers, France
4. Département de génétique médicale, Hôpital Timone, Marseille, France
5. Service de génétique, CHU, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Goizet Cyril (cyril.goizet@chu-bordeaux.fr)

L'ataxie spastique autosomique récessive de Charlevoix-Saguenay (ARSACS) est la seconde plus fréquente ataxie héréditaire après l'ataxie de Friedreich. Elle est causée par les mutations du gène SACS codant pour la saccine, protéine localisée en partie à la mitochondrie mais dont la fonction reste inconnue.

Nous avons recherché des mutations ponctuelles par séquençage direct et des remaniements intragéniques par CGH array customisée dans une série de 320 cas index atteint par une ataxie spastique de début avant 45 ans collectés au sein du réseau SPATAX. Des biopsies de peau ont été obtenues auprès de 4 patients identifiés comme porteurs de mutations dans SACS.

Nous avons identifié 42 mutations ponctuelles (15 faux-sens and 27 tronquantes) chez 32 patients porteurs de 2 mutations confirmant le diagnostic d'ARSACS. La CGH array customisée a été réalisée chez les deux seuls patients porteurs d'une mutation tronquante hétérozygote sans révéler de remaniement associé. Les données cliniques et paracliniques de 39 patients issus des 32 familles ont pu être recueillies pour mieux en préciser le spectre phénotypique. Les cultures primaires de fibroblastes des 4 patients ARSACS ont permis de débiter des analyses fonctionnelles de la saccine. Des anomalies du réseau mitochondrial ont été observées dans toutes les biopsies avec une diminution de la masse mitochondriale globale d'environ 50%, une prédominance de tubules allongés hyperfusionnés et des mitochondries en raquettes et en bulles.

Le diagnostic d'ARSACS a été prouvé dans 13% de la population étudiée représentant ainsi la plus grande série de patients décrite. Le spectre phénotypique apparaît plus large que prévu avec des signes associés rarement rapportés auparavant. L'âge de début moyen est précoce mais des débuts tardifs après 25 ans ont été observés. Une neuropathie en général démyélinisante et une atrophie du vermis sont les signes le plus souvent associés à l'ataxie spastique. Les anomalies du réseau mitochondrial observées de façon similaire chez plusieurs patients suggèrent une fonction mitochondriale pour la saccine. L'étude de partenaires protéiques potentielle de la saccine est en cours.

**Mots-clés :** Ataxie de Charlevoix-Saguenay, Mutations, Anomalies mitochondriales

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D191/#657

### «Code Pk », vers un registre national français des patients déficients en pyruvate kinase (PK)

Olivier Lacrampe (3), Marguerite Micheau (5), Christian Rose (7), Anne Lambilliotte (9), Frederic Galacteros (2), Agnes Lahary (4), Sylvie Duluq (1), Francois-Xavier Mahon (1), Isabelle Thuret (8), Serge Pissard (6)

1. Hematologie Biologie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. UMGGR, GHU H Mondor, Créteil, France
3. hemato biologie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
4. Laboratoire d'Hématologie, CHU Rouen, France
5. hemato Biologie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
6. UF de Genetique, GHU Henri Mondor, Créteil, France
7. Service d'onco-hématologie, Hôpital St Vincent et Université Catholique, Lille, France
8. Hematologie Pédiatrique, HPHM, Hôpital pour Enfants de la Timone, Marseille, France
9. hematologie pediatrique, CHU Lille, Lille, France

**Auteur correspondant :** Pissard Serge (serge.pissard@inserm.fr)

#### Présentation .

«Code PK » est une cohorte oligocentrique de patients déficients en PK vivant en France, homozygotes ou hétérozygotes composites pour des mutations dans le gène PKLR. Elle vise à recueillir des données génétiques, cliniques et épidémiologiques des patients atteints de carence en pyruvate kinase.

Méthode. A partir de la liste de patients du laboratoire national impliqué dans le génotypage PKLR , un questionnaire a été envoyé aux cliniciens afin de recueillir des données génétiques, biologiques et cliniques de 60 patients. 3 groupes ont été définis en utilisant la valeur de l'Hb et la sévérité des symptômes : sévère (Hb < 8g/dL , et/ou transfusion sanguine régulière , et/ou splénectomie) , modéré ( Hb = 8 à 10 g / dL , ATCD de transfusion sanguine occasionnelle ) et mineur (Hb> 10g/dL ) .

Résultats. L'âge médian des patients était de 23 ans (extrêmes: 1-60) . Les patients présentant des phénotypes sévères (60%) et modérée (24%) ont été diagnostiqués avant l'âge de 2, alors que 22 % et 30% des formes mineures ont été diagnostiqués malades après 2 ans (3 après 50 ans) . 3 patients ont eut une présentation anténatal quelque fois requérant l'extraction du fœtus pour souffrance fœtale aiguë. La présence d'un Ictère (82%) et d'une splénomégalie (69%) étaient les signes les plus fréquents au moment du diagnostic avec une très faible valeur Hb dans le premier mois (8,95 g / dL). L'existence d'un hémolyse chronique pauci - symptomatiques (médiane Hb valeur 11g/dL ) et une surcharge martiale sont les principales causes de diagnostic tardif ( > 50 ans ) . 70% des patients ont des antécédents de transfusions et 23 % nécessitent des transfusions sanguines régulières (médiane ferritine sérique : 794ng/mL ) . La valeur médiane de la concentration en fer hépatique estimée par IRM était de 240 microM / g dans le groupe sévère, 25 patients recevant une chélation du fer. Une splénectomie a été réalisée pour 23 patients à un âge médian de 9 ans. Le génotypage montre que p.Arg510Gln est la mutation la plus fréquemment retrouvée dans les cas graves (11% ), tandis que p.Arg486Trp est plus fréquente dans les cas modérés ( 23%). Ces deux mutations sont dans la majorité des cas associées à des mutations privées.

Conclusion. Le déficit en PK est une maladie rare qui peut entraîner des symptômes graves comparable à ceux thalassémie intermédiaire ou majeure. La création d'un Registre national permettra d'améliorer la description de cette maladie rare et d'optimiser la prise en charge des patients.

**Mots-clefs :** déficit en pyruvate kinase, registre de malades, corrélation génotype/phénotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D192/#658

### Artériopathie anévrysmale et disséquante diffuse, arthrose précoce, neuropathie axonale de type Charcot-Marie-Tooth, auto-immunité : une nouvelle association clinique en relation avec des mutations dans le gène SMAD3.

Mélie Aubart (1), Delphine Gobert (2), Fleur Aubart-Cohen (3), Nadine Hanna (1), Delphine Détaint (4), Hyacintha d'Indy (1), Janine-Sophie Lequintrec (4), Philippe Renard (5), Anne-Marie Vigneron (5), Joelle Roume (5), Christine Muti (4), Véronica Cusin (5), Pierre Koch (6), Jean-Pierre Laissy (7), Philippe Dieude (8), Bernard Grandchamp (5), Laurent Gouya (5), Eric Le Guern (9), Thomas Papo (2), Guillaume Jondeau (5), Catherine Boileau (10)

1. Unité INSERM 698, Hôpital Bichat, Paris, France
2. Service de Médecine Interne, Hôpital Bichat, Paris, France
3. Service de Médecine Interne, Hôpital de La Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Centre de Référence Maladie de Marfan, Hôpital Bichat, Paris, France
5. Centre de référence Maladie de Marfan, Hôpital Bichat, Paris, France
6. Service de Radiologie, Hôpital Bichat, Paris, France
7. Service de radiologie, Hôpital Bichat, Paris, France
8. Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat, Paris, France
9. Département de Génétique, Hôpital de La Pitié Salpêtrière, Paris, France
10. Inserm U698, Hôpital Bichat, Paris, France

**Auteur correspondant :** Aubart Mélie (Melodie.Aubart@inserm.fr)

Sujet : Des mutations dans le gène SMAD3 ont récemment été décrites dans des familles de sujets porteurs d'anévrysmes de l'aorte ascendante, et leur spectre phénotypique incomplètement défini par une atteinte anévrysmale diffuse et arthrosique précoce. Le but de cette étude était de préciser ce phénotype.

Résultats : Neuf nouvelles mutations dans le gène SMAD3 ont été identifiées, permettant la caractérisation directe de 36 sujets atteints, et 14 apparentés atteints probables. L'atteinte aortique était présente chez 72% d'entre eux, conduisant à une dissection aortique, une chirurgie préventive ou une mort subite dans 56% des cas, à un âge moyen de 45 ans. Une tortuosité ou un anévrysmes des artères cervicales étaient présents chez 78% des patients, et une atteinte des autres artères dans 44%. Au total, 95% des sujets explorés par scanner artériel présentaient une atteinte vasculaire.

Les manifestations ostéo-articulaires étaient retrouvées chez tous les patients, ayant conduit à une chirurgie chez 9 d'entre eux à un âge moyen de 33 ans, et impliquait les genoux, poignets et/ou le rachis. 68% des sujets présentaient des symptômes neurologiques et l'électromyogramme révélait une neuropathie axonale sensitivo-motrice dans 3 familles différentes, évoquant une atteinte de type Charcot-Marie-Tooth de type 2. Enfin, 36% des patients présentaient des traits d'auto-immunité, incluant une maladie de Sjögren, une polyarthrite rhumatoïde, des thyroïdites de Hashimoto et la présence d'auto-anticorps.

Conclusion : Les sujets porteurs de mutations dans le gène SMAD3 présentent donc une maladie systémique associant une artériopathie anévrysmale et disséquante diffuse dont aortique, une atteinte articulaire sévère, précoce et prépondérante, une neuropathie axonale et une prédisposition à l'auto-immunité.

**Mots-clefs :** Anévrysmes et dissection artériels, Arthrose Précoce, Neuropathie de type Charcot Marie Tooth

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D193/#661

### Un nouvelle famille de déficience intellectuelle liée au chromosome X due à une mutation du gène UBE2A

Sabine Sigaudy (1), Pierre Cacciagli (2), Nicole Philip (3), Laurent Villard (4)  
1. Centre de Référence Anomalies du Développement et Unité de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France  
2. UMR\_S910, Inserm, Faculté de médecine de la Timone, Marseille, France  
3. Centre de référence Anomalies du Développement et Unité de génétique clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France  
4. UMR\_S910 INSERM, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Sigaudy Sabine (sabine.sigaudy@ap-hm.fr)

Nous rapportons une nouvelle famille de déficience intellectuelle liée à des mutations du gène UBE2A (syndrome de Nascimento).

La mutation c.C377T (p.A126V) a été identifiée chez 3 garçons d'une même famille dans le cadre d'une approche par séquençage de l'exome du chromosome X sur une série de patients présentant une déficience intellectuelle et une histoire familiale évocatrice d'une affection liée au chromosome X. Le séquençage a été effectué avec l'Illumina HiSeq pipeline v.1.5 au niveau du Centre National de Genotypage (Evry). Cette mutation était absente des bases de données de SNPs. L'analyse par le logiciel Mutation Taster indiquait une probabilité de pathogénicité de 0.99 (sur un maximum de 1).

Ces 3 patients d'origine Cap Verdienne présentaient une déficience intellectuelle qui semble plus modérée que les 26 patients rapportés dans la littérature. La marche a été acquise à respectivement 16, 17 mois et 3ans. Tous ont présenté un retard de langage et des convulsions. L'examen clinique retrouvait : une saillie des rebords orbitaires, un hypertelorisme, des yeux en amande, des sourcils fournis sans synophrys vrai, une bouche large. Sur l'IRM cérébrale réalisée chez le patient le plus jeune on retrouvait des hypersignaux de la substance blanche pariéto occipitale. Ces différents aspects sont compatibles avec les descriptions antérieures.

Cependant, contrairement aux autres familles rapportées dans la littérature, il n'a pas été retrouvé de biais d'inactivation du chromosome X chez la mère conductrice.

**Mots-cléfs :** déficience intellectuelle liée à X, UBE2A, inactivation de l'X

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D194/#663

### Présentation pédiatrique des mutations du gène PTEN, à l'exclusion des formes familiales de syndrome de Cowden.

Tiffany BUSA (1), Brigitte CHABROL (2), Nathalie DEGARDIN (3), Michel LONGY (4), Matthieu MILH (2), Sylviane OLSCHWANG (5), Nicole PHILIP (1), Hagay SOBOL (5)

1. Service de génétique clinique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France  
2. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France  
3. Service de chirurgie pédiatrique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France  
4. Laboratoire de génétique moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux, France  
5. Laboratoire d'oncogénétique moléculaire, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France

**Auteur correspondant :** BUSA Tiffany (tiffany.BUSA@ap-hm.fr)

PTEN est un gène suppresseur de tumeur (MIM 601628) impliqué dans les PTEN hamartoma tumor syndromes (PHTS). Les PHTS incluent notamment les syndromes de Cowden et de Bannayan-Riley-Ruvalcaba. Le syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba, considéré comme la forme pédiatrique, associe macrocéphalie, hémangiomes, lipomes, polypes intestinaux et tâches péniennes pigmentées. Plus récemment, des enfants présentant une macrocéphalie associée à un autisme ont été décrits. Nous rapportons les données cliniques et paracliniques de 7 enfants présentant une mutation dans le gène PTEN, diagnostiqués entre le 01/01/2009 et le 30/06/2013. L'âge moyen des patients était de 4.5 ans avec un sexe ratio de 3 garçons pour 4 filles. Les motifs de consultation étaient la présence d'une macrocéphalie, un retard de développement, une épilepsie et une malformation artério-veineuse. Au niveau clinique, les patients présentaient une macrocéphalie supérieure à +3DS (7/7), une avance staturale (3/7), des anomalies vasculaires (2/7), des lipomes (2/7). Aucun patient ne présentait de tâches péniennes. Quatre patients sur 7 présentaient un retard de développement, dont un seul associé à des signes autistiques. A noter que le frère de ce patient présentait un autisme isolé et n'était pas porteur de la mutation identifiée. Seulement 3 des 7 patients réunissaient les critères de syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba (selon la classification proposée par Parisi en 2001). La présentation clinique des autres patients était plus atténuée et associait une macrocéphalie à au moins un autre signe de PHTS. Les IRM cérébrales réalisées ont mis en évidence des anomalies aspécifiques chez tous les patients (6/6).

Cette étude montre la grande variabilité de présentation clinique des patients porteurs de mutation PTEN à l'âge pédiatrique. La plupart des enfants n'avait pas une présentation classique de syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba ou d'autisme-macrocéphalie. L'analyse du gène PTEN devrait être considérée chez tout enfant présentant une macrocéphalie supérieure à +3DS associée à un autre signe classique de PHTS.

**Mots-cléfs :** PTEN, macrocephalie, retard de développement

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D195/#670

### Le séquençage de l'exome révèle des mutations du gène ATM associées à plusieurs phénotypes inhabituels

Marie Coutelier (1), Laure Raymond (2), Olga Lucia Pedraza (3), Ahmed Bouhouche (4), Naima Bouslam (4), Ali Benomar (4), Marie Vidailhet (5), Mathieu Anheim (6), Jean-François Deleuze (7), Stephan Zuchner (8), Giovanni Stevanin (9), Alexandra Durr (10)

1. Laboratoire de Génétique Humaine, Institut de Duve, UCL, Bruxelles, Belgique / Laboratoire de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, NEB, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

2. CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, NEB, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6) / Laboratoire de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

3. Grupo Interdisciplinario de la Memoria, Hospital Infantil Universitario de San José, Bogota, Colombie

4. Hôpital des Spécialités, Université Mohammed V Souissi (UM5S), Rabat, Maroc

5. ICM-Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6) / APHP, Fédération des maladies du système nerveux, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

6. Service de Neurologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

7. CNG, Centre National de Génotypage, Evry, France

8. Dr. John T. Macdonald Foundation Department of Human Genetics and John P. Hussman Institute for Human Genomics, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, USA

9. ICM-Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6) / Laboratoire de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

10. ICM-Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière / CRICM, Inserm UMRS 975, CNRS UMR 7225, Université Pierre et Marie Curie (UMPC – Paris 6) / APHP, Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Durr Alexandra (alexandra.durr@upmc.fr)

Dans le cadre du réseau international SPATAX (<http://spatix.wordpress.com>), le séquençage de l'exome a été réalisé dans des familles avec dystonie et atrophie cérébelleuse sans ataxie marquée (DYTCA, n=6), avec ataxie cérébelleuse et hypogonadisme (n=7), et avec ataxie cérébelleuse récessive. Nous rapportons ici 4 familles qui présentent des mutations dans le gène ATM compatibles avec une transmission autosomique récessive, mais un tableau non classique.

Le phénotype habituel de l'ataxie télangiectasie, deuxième forme la plus fréquente d'ataxie autosomique récessive, est l'association d'une ataxie cérébelleuse, de télangiectasies conjonctivales, d'une apraxie oculomotrice, d'une susceptibilité accrue aux infections, surtout des sphères ORL et pulmonaire, d'un risque accru de cancer, le plus souvent lymphome ou leucémie. Elle s'accompagne classiquement d'une élévation de l'alpha-foeto-protéine. Elle débute habituellement dans l'enfance, avant l'âge de 5 ans, s'aggrave de façon rapide avec une perte de la marche vers 10 ans en moyenne et un décès vers 20 ans en moyenne.

La première famille a d'abord présenté une dysarthrie sévère, qui a évolué vers une dystonie à la parole et des membres. Si la dystonie n'est pas exceptionnelle dans l'ataxie-télangiectasie, elle est ici nettement prépondérante, et les signes cérébelleux sont apparus beaucoup plus tardivement, vers 25 ans, et sont restés modérés. Il existe également une apraxie oculomotrice, et l'alpha-foeto-protéine est élevée. Il s'agit ici d'une hétérozygotie composite, avec une mutation c.2638+2 T>G, non connue, et une deuxième mutation faux-sens p.V2716A décrite précédemment.

Le patient de la deuxième famille présente à 17 ans un hypogonadisme hypogonadotrope. L'IRM cérébrale montre alors une

très importante atrophie cérébelleuse. Le patient développe alors des signes cérébelleux, d'évolution rapide, et un déclin cognitif. Moins de 15 ans plus tard, il est grabataire, en raison de l'importance de son syndrome cérébelleux, d'un syndrome pyramidal associé, mais surtout d'un état démentiel avancé. La mutation décrite est un faux-sens p.E299G hétérozygote, non décrit dans la littérature, mais prédit comme pathogène par SIFT et Mutation Taster.

La troisième famille montre une atteinte oculaire marquée avec ophtalmoplégie et apraxie oculomotrice, accompagnée d'un syndrome cordonal postérieur. Elle présente une mutation homozygote non-sens p.R3047\*, déjà décrite.

Dans la dernière famille, d'origine colombienne, des variants hétérozygotes composites (p.T1880R et p.F858L) sont en cours de vérification. Chez ces 4 patients, l'atteinte cognitive précoce prédomine, et les signes cérébelleux sont plus tardifs et accompagnés de spasticité, avec une alpha-foeto-protéine normale.

En conclusion, nous élargissons le phénotype lié au gène ATM, avec la présence de dystonie et troubles cognitifs au premier plan, un âge de début tardif et sans élévation constante l'alpha-foeto-protéine.

**Mots-clefs :** ATM, exome, phénotype inhabituel

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D196/#671

### Une nouvelle entité du syndrome de cutis marmorata telangiectatica congénita associé à des anomalies des ongles et des cheveux

Maria Mansouri (1), Jamila Semlali (2), Siham Chafai Elaloui (1), Abdelaziz sefiani (1)

1. Département de génétique, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

2. service de pédiatrie 1, Hôpital d'enfant de Rabat, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** Mansouri Maria (mariamansourig@hotmail.fr)

Le cutis marmorata telangiectatica congenita (CMTC) est une maladie vasculaire congénitale caractérisée par une forme persistante de cutis marmorata avec une apparence marbrée généralisée. Environ 300 cas ont été rapportés jusqu'à ce jour. Le début de la symptomatologie est souvent à la naissance et s'accroît au cours des premières semaines de la vie. Ce syndrome se manifeste par la présence d'un réseau vasculaire bleu-violet au niveau de la peau et des anomalies capillaires au niveau des jambes, bras et tronc, et rarement au niveau du visage et cuir chevelu. Plus de 50% des patients ont une association avec des signes extra-cutanés : asymétrie corporelle, lésions vasculaires, troubles neurologiques et oculaires. Aucun gène à ce jour n'a été identifié comme responsable du CMTC.

Nous rapportons dans ce travail l'observation d'un patient âgé de 18 mois, non consanguin qui présente un aspect marbré du corps, des anomalies capillaires diffuses, et une circulation collatérale au niveau du scalp. Ce tableau de CMTC est associé chez notre patient, à une dysplasie des ongles des mains et des pieds et une absence des sourcils avec rareté des cheveux. Le bilan radiologique a objectivé des angiomes au niveau cérébral et trachéal.

L'association du CMTC avec une dysplasie des ongles et absence de cils n'a jamais été rapportée à ce jour

**Mots-clefs :** Cutis Marmorata telangiectatica Congenita, Dysplasie ongles, Anomalies des cheveux



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D197/#672

### Nouveau syndrome avec craniosténose et anomalies dentaires chez une famille marocaine avec trois enfants atteints.

Maria Mansouri (1,2), Hanae Hessissen (3), Siham Chafai Elalaoui (1), mohamed EL Alloussi (3), Guy Rouleau (4), abdelaziz sefiani (1,2)

1. Département de génétique, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco
2. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco
3. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco
4. Département de Neurologie et Neurochirurgie, Université de McGill, Montréal, Canada

**Auteur correspondant :** Mansouri Maria (mariamansourig@hotmail.fr)

Les craniosténoses consistent en la fusion prématurée d'une ou plusieurs sutures crâniennes, résultant en une forme anormale du crâne avec une prévalence de 1 sur 2 000 à 2 500 naissances vivantes. Il existe des formes isolées et syndromiques, primitives ou secondaires avec différents âge de diagnostic. Les craniosténoses syndromiques sont souvent associées à des anomalies de la face, des membres et un retard de développement de degré variable avec différents gènes impliqués, principalement les gènes FGFR, le TWIST1 et le MSX2. La prise en charge est chirurgicale et nécessite des interventions séquentielles.

Nous rapportons le cas d'une famille marocaine non consanguine, avec trois filles atteintes, âgées respectivement de onze, dix et trois ans qui présentent une craniosténose (scaphocéphalie chez les deux filles aînées et trigonocéphalie chez la benjamine) et des anomalies de structure et de forme des dents avec un bon développement psychomoteur.

L'étude moléculaire des différents gènes impliqués dans les craniosténoses syndromiques : FGFR2, FGFR1, FGFR3 et TWIST1, impliqués dans les craniosténoses avec anomalies faciales et anomalies des membres était normale. L'étude des gènes RUNX2 et IL11RA impliqués respectivement dans la dysplasie cléido-craniale et la craniosténose avec hypoplasie du maxillaire, est revenue aussi normale.

Il s'agit là du premier syndrome décrit associant une craniosténose avec des anomalies dentaires. La récurrence de ce syndrome chez la fratrie de sexe féminin, nous font évoquer divers modes de transmission : autosomique récessif, autosomique dominant avec mosaïcisme gonadique ou dominant lié à l'X. La recherche de la mutation causale par exome séquencing est prévue pour cette famille.

**Mots-clefs :** Craniosténose,, Anomalies dentaires,, Syndrome

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D198/#674

### Phénotypes rétiniens atypiques dans le syndrome de Bardet-Biedl. Etude de corrélation génotype-phénotype.

Sophie Scheidecker (1), Yaumara Perdomo (1), Valérie Pelletier (2), Fouzia Studer (1), Sabine Defoort-Dhellemmes (3), Bernard Puech (4), Andrew Webster (5), Jean Muller (6), Corinne Stoetzel (7), Hélène Dollfus (8)

1. Service de Génétique Médicale, Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service d'exploration de la Vision et Neuro-ophtalmologie, CHRU de Lille, Lille, France
4. Exploration fonctionnelle de la vision, CHRU de Lille, Lille, France
5. Research Fellow & Honorary Clinical Registrar, Genetics Office, Professorial Unit, Moorfields Eye Hospital NHS Trust, London, Royaume-Uni
6. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Service de Génétique Médicale, Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Scheidecker Sophie (sophie.scheidecker@gmail.com)

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) appartient au groupe des ciliopathies et est caractérisé par l'association d'une dystrophie rétinienne, d'une polydactylie post-axiale, d'une obésité, d'une atteinte rénale, d'un hypogonadisme et de troubles cognitifs. Le BBS est génétiquement très hétérogène puisqu'à ce jour 18 gènes BBS ont été identifiés (BBS1 à BBS18).

Dans le spectre des pathologies ciliaires, l'œil est un des organes les plus souvent atteints et le BBS est une des causes les plus fréquentes de dégénérescence rétinienne syndromique.

Dans le BBS, l'atteinte rétinienne est constante et de début précoce mais elle peut être d'expression variable. La manifestation la plus fréquente est la dystrophie de type rod-cone mais peuvent également exister des patients présentant une atteinte initiale des cônes, des atteintes tardives ou des rétinopathies pigmentaires isolées ou associées à un phénotype extra-oculaire modéré.

Aucune corrélation phénotype-génotype n'a pu être clairement établie dans le BBS à l'heure actuelle, notamment en ce qui concerne le phénotype ophtalmologique. L'implication de variants modificateurs pourrait expliquer la variabilité des phénotypes observés.

Nous rapportons plusieurs patients BBS présentant des phénotypes rétiniens atypiques de type dystrophie des cônes et des atteintes de révélation tardive. Ces patients ont des mutations dans des gènes BBS différents et pour certains des mutations déjà décrites dans d'autres familles dont le phénotype rétinien est distinct. Cette variabilité phénotypique rétinienne peut représenter un enjeu diagnostique lorsque les phénotypes sont extrêmes et donc peu évocateurs du syndrome et qu'il n'existe pas tous les critères diagnostiques de BBS.

**Mots-clefs :** Syndrome de Bardet-Biedl, Dystrophie rétinienne, Corrélation génotype-phénotype

**Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme****D199/#681****Des mutations de REEP2 rendent compte de formes autosomiques dominantes et autosomiques récessives de paraplégie spastique héréditaire.**

Typhaine Esteves (1,2,3,4), Alexandra Durr (1,2,3,5), Emeline Mundwiller (6), José L. Loureiro (7), Maxime Boutry (1,2,3), Michael A. Gonzalez (8), Julie Gauthier (9), Khalid H. El-Hachimi (1,2,3,4), Christel Depienne (1,2,3,5), Marie-Paule Muriel (1,2,3), Rafael F. Acosta Lebrigio (8), Marion Gausson (1,2,3,4), Anne Noreau (9), Fiorella Speziani (8), Alexandre Dionne-Laporte (9), Jean-François Deleuze (10), Patrick Dion (9), Paula Coutinho (7), Guy A. Rouleau (9), Stephan Zuchner (8), Alexis Brice (1,2,3,5,6), Giovanni Stevanin (1,2,3,4,6), Frédéric Darios (1,2,3)

1. Université Pierre et Marie Curie – Paris VI, Unité Mixte de Recherche S975, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité 975, Paris, France
3. Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 7225, Paris, France
4. Laboratoire de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. APHP, Fédération de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France.
7. UNIGENE and Centro de Genetica Preditiva e Preventiva, Institute for Molecular and Cellular Biology, Porto, Portugal
8. Department of Human Genetics and Hussman Institute for Human Genomics, Miller School of Medicine, University of Miami, Miami, USA
9. Montreal Neurological Institute and Hospital, Department of Neurology and Neurosurgery, McGill University, Montreal, Canada
10. Centre National de Genotypage, Evry, France

**Auteur correspondant** : Darios Frederic (frederic.darios@icm-institute.org)

Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH) sont des maladies neurologiques hétérogènes sur le plan clinique et génétique dans lesquelles les principaux mécanismes pathogéniques impliqués sont le trafic intracellulaire, les fonctions mitochondriales et le métabolisme des lipides. Nous avons utilisé une combinaison de cartographie génétique et de séquençage de l'exome pour identifier le gène responsable de la maladie dans deux familles de PSH. Cette étude a conduit à l'identification de trois mutations causales dans le gène REEP2 : un variant faux-sens (c.107T>A, p.V36E) ségrégeant à l'état hétérozygote dans une famille à transmission autosomique dominante, ainsi qu'un variant faux-sens (c.215T>A, p.F72Y) et une mutation d'un site d'épissage (c.105+3G>T, r. ?) ségrégeant en trans dans une famille à transmission autosomique récessive. La protéine REEP2 appartient à une famille de protéines de structure du réticulum endoplasmique et l'analyse de fibroblastes de patients a montré une altération de l'organisation de ce compartiment cellulaire. Des expériences de biologie cellulaire et des tests in vitro ont mis en évidence que le variant p.V36E, trouvé dans la famille à transmission autosomique dominante, avait un effet dominant négatif et inhibait la liaison normale de la protéine sauvage aux membranes. La mutation faux-sens p.F72Y trouvée dans la famille à transmission récessive avait une affinité fortement diminuée pour les membranes, ce qui, associé à la mutation d'épissage dans cette famille, pourrait conduire à une perte de fonction de la protéine. Nos découvertes ont de fortes implications en pratique clinique et illustrent comment les transmissions dominantes et récessives peuvent être expliquées par les effets et la nature des mutations impliquant le même gène causal.

**Mots-clefs** : motoneurone, réticulum endoplasmique, dominant négatif**Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme****D200/#690****Redéfinition du spectre Clinique du syndrome de Shprintzen-Goldberg secondaire aux mutations de SKI**

Virginie Carnignac (1), Julien Thevenon (2), Lesley Ades (3), Bert Callewaert (4), Sophie Julia (5), Benjamin Tournier (6), Julie Plaisancié (5), Geneviève Baujat (7), Yves Dulac (8), Thomas Edouard (9), Patricia Amiatu (10), Eloisa Arbustini (11), Gavin Arno (12), Catherine Boileau (13), Anne Child (14), Julie De Backer (15), Anne De Paepe (16), Maja Di Rocco (17), Laurence Duplomb (1), Maurizia Grasso (11), Renata Gustafsson (18), Nadine Hanna (19), Katherin Holman (20), Frédéric Huet (21), Guillaume Jondeau (22), Dominique Martin (23), Florence Petit (24), Hervé Plauchu (25), Ghislaine Plessis (12), Marjolain Renard (26), Jean-Baptiste Rivière (27), Peter Robinson (28), Jaime Sanchez Del Pozo (29)

1. Equipe GAD, EA 4271, Université de Bourgogne, Dijon, France
2. FHU Translad, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Université de Bourgogne, EA4271 GAD, CHU de Dijon, Dijon, France
3. Discipline of Paediatrics and Child Health, University of Sydney, Sydney, Australie
4. Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital & Ghent University, Ghent, Belgique
5. Service de Génétique, CHU Purpan, Toulouse, France
6. Service d'Anatomie Pathologique, Plateau Technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
7. Laboratoire de Génétique Institut de Recherche Necker Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
8. Service de Cardiologie, Chu de Toulouse, Toulouse, France
9. Service de Pédiatrie, Chu de Toulouse, Toulouse, France
10. Department of Molecular Genetics, The Children's Hospital at Westmead, Sydney, Australie
11. Centre for Inherited Cardiovascular Diseases, Foundation IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia, Italie
12. Service de Génétique, CHU de Caen, Caen, France
13. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, APHP,, Université Versailles-Saint Quentin en Yvelines, Boulogne, France
14. Department of Cardiac and Vascular Sciences, St. George's University of London, London, Royaume-Uni
15. Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgique
16. Center for Medical Genetics, University Hospital, Ghent, Belgique
17. Unit of Rare Diseases, Department of Pediatrics,, Gaslini Institute, Genova, Italie
18. Muscle Biology Group, BMC B12, Department of Experimental Medical Science,, Faculty of Medicine, Lund, Suède
19. Service de Génétique, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, Finlande
20. Department of Clinical Genetics, The Children's Hospital at Westmead, Sydney, Australie
21. Service de Pédiatrie, CHU de Dijon, Dijon, France
22. Centre de Référence Maladie de Marfan,, APHP, Hôpital Bichat, INSERM U698, Paris, France
23. Service de génétique, Pôle de biopathologie, CH Le Mans, Le Mans, France
24. Service de génétique clinique, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
25. Département de Génétique, Hôpital Louis Pradel, CHU-HCL, Lyon, France
26. Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, France
27. Laboratoire de génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
28. 21 Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik, Universitätsmedizin Charité, Berlin, Allemagne
29. Department of Genetics, Division of Endocrinology,, 12 de Octubre Hospital, Madrid, Espagne

**Auteur correspondant** : Thevenon Julien (julien.thevenon@chu-dijon.fr)

Le syndrome de Shprintzen-Goldberg (SGS) se caractérise par un habitus marfanoïde sévère, une déficience intellectuelle, une dysmorphie faciale comprenant une craniosténose, et des contractures articulaires. Par une approche de séquençage d'exome, nous avons récemment pu mettre en évidence que les mutations non tronquantes dans l'exon 1 de SKI étaient responsables du SGS de 18 des 19 patients étudiés. En se basant sur ce recrutement, ajouté de nouveaux patients diagnostiqués, nous précisons le spectre du SGS. Les 21

patients décrit sont porteurs de mutations de SKI survenues de novo à l'exception de 2 cas familiaux avec : i) une mosaïque somatique parentale pauci symptomatique, ii) une famille SGS de transmission dominante autosomique. Tous les patients présentaient un phénotype caractéristique associant une dysmorphie faciale (scapho/dolichocéphalie 94%, hypertélorisme 89%, fentes anti-mongoloïde 84%, hypoplasie malaire 84%, proptose oculaire 79%, micrognathie 79%), des manifestations squelettiques marfanoides sévères (arachnodactylie 94%, malposition des pieds 89%, scoliose 84%, déformation du pectus 79%) et des contractures articulaires (grosses articulations 79%, camptodactylie 47%). La craniosténose n'était pas systématique (63%). Les autres manifestations communes incluaient des hernies, une perte de la graisse sous cutanée et une myopie. Les patients présentaient une prédisposition à la dilatation de la racine aortique, débutant dans l'enfance et présente chez 16% de la cohorte (âge moyen de 20 ans). Une anomalie valvulaire était présente chez 31% des cas, justifiant un suivi cardiaque au long cours. Une adulte jeune est décédée brutalement de cause non définie (sans dilatation aortique) et une autre patiente est décédée d'insuffisance respiratoire dans la quarantaine. Bien que la quasi totalité des patients ait une déficience intellectuelle, un de nos cas porteur d'une mutation récurrente et porteur d'un phénotype caractéristique avec de simples troubles d'apprentissages. L'élucidation de la cause moléculaire du SGS permettra de mieux définir le spectre clinique des manifestations associées.

**Mots-clefs** : Syndrome de Shprintzen-Goldberg, Voie du TGFβ, dilatation aortique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D201/#692

### Le syndrome de Mowat-Wilson : apport de 200 mutations ZEB2

Jamal Ghoumid (1), Patrick Raymond (2), Loïc Drévilion (1), Mayssa Nasser (1), Michel Goossens (1), Irina Giurgea (1)

1. Service de Génétique, Hôpital Henri Mondor - Inserm U955 Equipe 11, Créteil, France

2. Service de Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

**Auteur correspondant** : Giurgea Irina (irina.giurgea@inserm.fr)

Le syndrome de Mowat-Wilson (MWS, MIM#235730) associe une déficience intellectuelle (DI) sévère, une dysmorphie faciale caractéristique et de façon variable, une microcéphalie, une épilepsie, des malformations cérébrales de type agénésie du corps calleux, une maladie de Hirschsprung ainsi que des anomalies cardiaques et rénales. Le gène ZEB2, localisé en 2q22.3, est responsable du MWS avec des mutations survenant de novo, à l'état hétérozygote. Il code la protéine SIP1 (Smad Interacting Protein 1), un facteur de transcription exprimé tôt au cours du développement embryonnaire dans les dérivés de la crête neurale, du neuroépithélium et du mésoderme para-axial. SIP1 comporte six domaines fonctionnels dont deux domaines doigt de zinc, l'un en position N-terminale et l'autre en C-terminale (CZF et NZF), permettant la liaison à l'ADN. Parmi les 200 patients de notre cohorte avec une mutation de ZEB2, 12% ont une délétion complète ou partielle du gène, 50% une ins/del, 33% une mutation non-sens, 3% une mutation d'épissage et 2% des mutations faux-sens.

Nous avons récemment identifié les trois premières mutations faux-sens du domaine CZF de ZEB2. Les patients ont un phénotype très modéré de MWS, avec une DI modérée, sans microcéphalie, ni anomalie cardiaque ou rénale, ni maladie de Hirschsprung. Les signes faciaux sont discrets, mais rappellent ceux du MWS typique. Ces patients ont marché entre 23 et 26 mois et font des phrases de deux à cinq mots, alors que les sujets atteints d'un MWS typique marchent seulement après l'âge de 4 ans et n'ont pas de langage.

Nous avons montré par des études fonctionnelles *in vitro* une absence de liaison des mutants CZF au promoteur de l'E-cadhérine, une des cibles transcriptionnelles de SIP1. Dans un modèle zebrafish, nous avons réalisé à l'aide de la technologie des morpholinos une inactivation de sip1b, l'orthologue de ZEB2 et observé un phénotype très anormal des embryons. En injectant des ARNm de ZEB2 avec les mutations faux-sens identifiées nous avons constaté une réversion du phénotype des morphants sip1b. Ces résultats suggèrent une perte de fonction partielle des protéines mutées.

Avec une prévalence de 1 sur 50 000–70 000 naissances, le MWS est une entité bien reconnaissable cliniquement, surtout dans sa forme complète. Celle-ci est due à des mutations tronquantes ou délétions de ZEB2 et un mécanisme d'haploinsuffisance. La forme plus frustre, avec une DI modérée et sans malformation congénitale, est associée aux mutations faux-sens situées dans un domaine doigt de zinc de ZEB2 et à une perte partielle de fonction de la protéine. Cette dernière forme est probablement sous-diagnostiquée. L'identification récente par exome des variants faux-sens de ZEB2 de novo chez des patients avec DI sévère mais sans dysmorphie faciale évocatrice de MWS ni malformation, nous invite à pratiquer de nouvelles études fonctionnelles. Ces études pourraient nous renseigner plus sur le rôle de ZEB2, encore que partiellement connu.

**Mots-clefs** : Le syndrome de Mowat-Wilson, ZEB2, déficience intellectuelle

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D202/#697

### Classification de la sub-luxation du cristallin dans la maladie de Marfan en 5 stades de sévérité croissante

Jean-Christophe Zech (1), Audrey Putoux (2), Emmanuelle Fargeton (3), Patrick Ederly (4), Henri Plauchu (3), Sophie Dupuis-Girod (3)

1. Ophtalmologie, Centre Ophtalmologique Kleber, Lyon, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
3. Centre de Compétence Maladie de Marfan, Hôpital Cardiologique, Lyon, France
4. Génétique Médicale, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Putoux Audrey (audrey.putoux@chu-lyon.fr)

**Introduction :** Le syndrome de Marfan (MFS, OMIM 154700) est une pathologie du tissu conjonctif de transmission autosomique dominante caractérisée par l'association de signes morpho-squelettiques, cardiovasculaires et ophtalmologiques et dont le diagnostic repose sur les critères de Ghent, modifiés en 2010. Ce syndrome est lié à des mutations du gène FBN1 codant pour une protéine appelée Fibrilline et intervenant dans la structure de la matrice extra-cellulaire. La subluxation du cristallin observée dans le MFS, caractérisée par un déplacement partiel ou complet de ce dernier, résulte d'une interruption des fibres zonulaires entraînant des troubles visuels à type de diminution, fluctuation de l'acuité visuelle ou de diplopie monoculaire. Il s'agit de la manifestation oculaire la plus fréquente du MFS, considérée comme un signe cardinal de ce dernier. Pourtant, la conduite de l'examen ophtalmologique de ces patients n'est pas vraiment codifiée.

**Matériel et méthodes :** Etude prospective des patients vus dans le service de génétique entre 2000 et 2013 pour un MFS confirmé en biologie moléculaire qui ont eu un examen ophtalmologique systématique avec le même opérateur (JCZ) utilisant une classification en 5 stades de l'ectopie du cristallin de sévérité croissante (stades 1, 2, 3, 4 et 5, le stade 5 correspondant à une luxation complète). L'examen ophtalmologique a été basé sur une mesure de l'acuité visuelle sans et avec correction, un examen à la lampe à fente et un examen au verre à 3 miroirs. Ces patients ont été comparés à des témoins sains (sujets apparentés non atteints), ayant bénéficié d'un examen ophtalmologique selon le même protocole.

**Résultats :** 74 patients et 36 témoins ont été inclus. Aucun stade 5 n'a été observé dans notre cohorte. Les stades 3 et 4 sont spécifiques et doivent être considérés comme un critère diagnostique de la maladie de Marfan (spécificité et valeur prédictive négative : 100%). La prise en compte du stade 2 augmente sensiblement la sensibilité du signe (de 32 à 65 %) sans diminuer la spécificité. Le stade 1 bilatéral est à considérer comme un potentiel signe précoce de sub-luxation du cristallin mais ne peut être considéré comme un critère diagnostique de la maladie de Marfan en raison de sa spécificité médiocre (sensibilité : 85%, spécificité : 83%). Nous proposons dans ce cas une surveillance ophtalmologique annuelle.

**Conclusion :** Nous proposons une classification en 5 stades de la sub-luxation du cristallin dans le MFS qui permet de mieux définir ce critère diagnostique. La reproductibilité de l'examen ophtalmologique décrit permettra de standardiser l'évaluation de ce signe majeur de MFS.

**Mots-clés :** Marfan, Sub-luxation du cristallin, Critères de Ghent

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D203/#702

### Syndrome d'Aicardi-Goutières : Données épidémiologiques issues de la population étudiée au Laboratoire de Référence pour le Diagnostic Moléculaire des Leucodystrophies (CHU de Clermont-Ferrand)

Pierre BLANC (1), Caroline JANEL (1), Amélie DION (1), Isabelle CREVEAUX (1)

1. Service de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire, UF de Biologie Moléculaire, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

**Auteur correspondant :** BLANC Pierre (pblanc@chu-clermontferrand.fr)

Le syndrome d'Aicardi-Goutières est une maladie rare à transmission autosomique récessive (exceptionnellement dominante). Les formes d'apparition néonatale peuvent mimer les infections congénitales de type TORCH. Elles se manifestent par une encéphalopathie sub-aiguë associée à une épilepsie (53%), des engelures des extrémités (43%) et des épisodes aseptiques fébriles (40%) et évoluent en quelques mois vers une déficience intellectuelle, une microcéphalie et un syndrome pyramidal. Les formes plus tardives, débutant après 1 an, sont de sévérité moindre : absence de microcéphalie, fonctions cognitives relativement préservées, survie au-delà de 10 ans. Le diagnostic repose sur l'aspect de leucodystrophie kystique associée à des calcifications des noyaux gris centraux et de la substance blanche à l'IRM, ainsi que sur la lymphocytose et l'élévation transitoire de l'INFα dans le LCR. Six gènes ont été identifiés comme porteurs de mutations responsables de ce syndrome : TREX1, RNASEH2A, RNASEH2C (formes plutôt précoces), RNASEH2B (formes plutôt tardives), SAMHD1 et plus récemment ADAR1. Certaines formes de lupus (lupus à engelures) seraient associées à des mutations hétérozygotes dans certains gènes responsables de syndrome d'Aicardi-Goutières, en particulier les gènes TREX1 et SAMHD1. Il s'agit le plus souvent de formes familiales de lupus à engelures.

Depuis 2007, 100 patients ont été analysés dans le Laboratoire de Référence de diagnostic moléculaire des leucodystrophies et 45 identifiés comme porteurs de mutations dans l'un des 5 gènes actuellement étudiés (TREX1, RNASEH2A, B, C, SAMHD1). Parmi ces patients, 4 sont porteurs d'une mutation unique à l'état hétérozygote, ce qui a déjà été décrit dans la littérature. La majorité de ces mutations retrouvées impliquent le gène RNASEH2B avec une forte récurrence de la mutation c.529G>A [p.(Ala177Thr)] dans l'exon 7 (retrouvée 39 fois sur 48 mutations dans RNASEH2B). Nous avons aussi exploité les données cliniques, biologiques et radiologiques disponibles dans le but de décrire notre population et d'établir une fiche de renseignements cliniques adaptée à la pathologie. En dehors du cas particulier des formes congénitales, nous n'avons pas pu établir de corrélation génotype - phénotype notable. Par ailleurs, tous les patients mutés ont une présentation clinique conforme à la description de Rice et al., 2007.

Par ailleurs, quelques patients ont été adressés dans le cadre soit de formes familiales de lupus engelures, sans présence de signe neurologique ou d'anomalie à l'IRM, soit de maladie de Moyamoya. Pour l'heure, aucune mutation n'a été identifiée dans le gène TREX1 chez ces 8 patients (L'analyse de SAMHD1 est en cours).

**Mots-clés :** Syndrome d'Aicardi-Goutières, Gène TREX1 et complexe RNASEH2, SAMHD1, leucodystrophie



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D204/#703

### Le gène suppresseur de tumeur WWOX est muté dans un nouveau syndrome récessif associant ataxie cérébelleuse, épilepsie et retard mental

Martial Mallaret (1), Matthis Synofzik (2), Jaeho Lee (3), Cari Sagum (3), Muhammad Mahajnah (4), Rajach Sharkia (4), Nathalie Drouot (5), Mathilde Renaud (1), Fabrice Klein (5), Mathieu Anheim (1), Christine Tranchant (1), Jean-Louis Mandel (5), Mark Bedford (3), Peter Bauer (6), Mustafa Salih (7), Rebecca Schüle (2), Ludger Schöls (2), Marcelo Aldaz (3), Michel Koenig (8)

1. Service de Neurologie, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
2. Department of Neurodegenerative Diseases, Hertie-Institute for Clinical Brain Research, Tübingen, Allemagne
3. Department of Molecular Carcinogenesis, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center, Smithville, USA
4. Pediatric Neurology and Child Developmental Center, Hillel Yaffe Medical Center, Hadera, Israel
5. Département de médecine translationnelle et de neurogénétique, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France
6. Department of Human Genetics, Institute of Medical Genetics and Applied Genomics, Tübingen, Allemagne
7. Division of Pediatric Neurology, College of Medicine, King Saud University, Riyadh, Arabie saoudite
8. INSERM UMR\_S 827, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** Koenig Michel (michel.koenig@inserm.fr)

Nous avons précédemment localisé une nouvelle forme d'ataxie récessive avec épilepsie généralisée tonico-clonique et retard mental (SCAR12) dans un intervalle de 19 mégabases en 16q21-q23 par cartographie par homozygotie d'une grande famille consanguine d'Arabie Saoudite. Nous avons maintenant identifié par séquençage d'exome la mutation faux-sens p.Pro47Thr dans le premier domaine WW du gène WW/oxydoréductase, WWOX, situé dans l'intervalle de liaison. La proline 47 est un résidu hautement conservé qui fait partie de la séquence consensus du motif WW et fait partie du noyau hydrophobe qui stabilise le repliement du domaine WW. Nous démontrons que la proline 47 est un résidu essentiel pour le maintien de l'intégrité fonctionnelle de la protéine WWOX, et que sa mutation en une thréonine entraîne la perte de l'interaction protéine-protéine du premier domaine WW. Nous avons également identifié dans une deuxième famille la mutation homozygote p.Gly372Arg touchant la glycine 372 hautement conservée. Le phénotype des patients de cette deuxième famille ressemble beaucoup à celui de la famille princeps, avec épilepsie généralisée tonico-clonique, retard mental et ataxie, mais incluant aussi une atteinte du motoneurone pyramidal présente au premier plan. En outre, nous avons observé que les souris KO pour WWOX présentent des crises épileptiques spontanées et audiogéniques, un phénotype observé précédemment chez le mutant spontané de WWOX décrit chez le rat et présentant une ataxie et une épilepsie (Suzuki et al. , 2007 et Suzuki et al. , 2009), indiquant que des mutations homozygotes du gène WWOX dans différentes espèces entraînent une nouvelle maladie associant ataxie cérébelleuse et épilepsie.

**Mots-clefs :** ataxie épilepsie, retard mental, gène suppresseur de tumeur

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D205/#706

### Syndrome de Prader- Willi avec hétérodisomie ségmentaire complexe: à propos d'un cas Tunisien

rym meddeb (1), Mediha Trabelsi (1), Faouzi Maazoul (1), myriam chaabouni (1), Habiba chaabouni bouhamed (1), ridha mrad (1)

1. service des maladies héréditaires et congénitales, hopital Charles Nicolle, tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** meddeb rym (meddeb\_rym@yahoo.fr)

Le syndrome de Prader- willi est du à une absence de contribution paternelle de la région 15q11-q13, soumise à une régulation épigénétique : l'empreinte parentale. Plusieurs mécanismes moléculaires sont impliqués dans cette pathologie dont la microdélétion 15q11-q13 de l'allèle paternel, la disomie uniparentale maternelle et l'anomalie du centre d'empreinte.

Dans ce travail, nous présentons un patient tunisien chez qui le diagnostic d'un syndrome de Prader willi a été retenu. L'étude de marqueurs polymorphes de la région 15q11-q13 a permis de déterminer le mécanisme génétique en révélant une hétérodisomie maternelle segmentaire.

Nous proposons, chez ce patient, l'hypothèse d'un double crossing over secondaire à la survenue de trois événements en pré et en post zygotique.

A notre connaissance, il s'agit du premier cas de syndrome de Prader-Willi avec un tel mécanisme complexe.

**Mots-clefs :** prader-willli, disomie uniparentale, empreinte parentale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D206/#707

### Etude génétique du gène mefv de la maladie périodique : à propos de trois familles marocaines

imane samri (1), laïla bouguenouch (1), khadija belhassan (1), hasna hamdaoui (2), fatima zahra laarabi (3), abdelaziz sefiani (4), karim ouldim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc
2. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc
3. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
4. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** samri imane (imane.samri@yahoo.fr)

**Introduction.** La fièvre méditerranéenne familiale (FMF), appelée aussi maladie périodique, est une maladie inflammatoire héréditaire. Elle présente une répartition géographique et ethnique particulière. En effet, elle est essentiellement observée dans les populations originaires du pourtour méditerranéen (Arabes, Juifs Sépharades, Turcs et Arméniens). C'est une affection génétique à transmission autosomique récessive, due à des mutations dans le gène MEFV porté par le chromosome 16. Plus de deux cents variants ont été décrits, mais seules cinq mutations (p.E148Q, p.M680I, p.M694I, p.M694 V et p.V726A) sont fréquemment associées à la majorité des cas de FMF. Nous rapportons les résultats de trois familles marocaines avec récurrence de cette pathologie.

**Patients et méthodes.** 16 patients ont été recrutés à l'unité de génétique médicale du CHU Hassan II de FES, neuf femmes et sept hommes. L'ADN génomique a été extrait à partir de sang périphérique selon le protocole standard de « salting out », puis le gène MEFV a été exploré par PCR-séquençage à la recherche spécifique de la mutation la plus fréquente M694I dans l'exon 10.

**Résultats.** L'analyse moléculaire conduite chez les patients a montré que : six portaient la mutation M694I à l'état homozygote. Six portaient la mutation à l'état hétérozygote, suggérant qu'ils pourraient être hétérozygotes composites avec une autre mutation non encore recherchée. Quatre patients ne présentaient pas la mutation recherchée, avec une clinique très évocatrice de la maladie et une bonne réponse au traitement test, ce qui n'exclut pas la présence d'autres mutations non encore recherchées.

**Discussion et conclusion.** – Les résultats de cette étude ont montré que parmi les seize patients étudiés, seulement six portaient la mutation M694I à l'état homozygote avec un diagnostic clinique de la maladie périodique évident chez tous les malades et une bonne réponse thérapeutique. Ainsi, il serait intéressant de chercher les autres mutations connues du gène MEFV impliquées dans cette affection afin de prodiguer un conseil génétique adéquat à tous les autres membres des 3 familles.

**Mots-clefs :** maladie périodique, gène MEFV, mutation M694I

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D207/#711

### Spectre phénotypique associé aux mutations de RNU4ATAC: revue clinique et génétique de 37 patients

Audrey Putoux (1), Eudeline Alix (2), Gaëtan Lesca (2), Jessica Michel (2), Michael B. Bober (3), Audrey Labalme (2), Renaud Touraine (4), Sheela Nampoothiri (5), Ariana Kariminejad (6), Isabella Borg (7), Pierre-Simon Jouk (8), Siren Berland (9), Annick Toutain (10), Elisabeth Steichen (11), Jocelyne Attia (12), Frédérique Dijoud (13), Alexandre Vasiljevic (14), Amandine Fournier (2), Coline Poizat (2), Charles Marcaillou (15), Carol A. Wise (16), Laurent Guibaud (17), Damien Sanlaville (2), Francis Rousseau (18), Françoise Clerget-Darpoux (19), Anne-Louise Leutenegger (20), Patrick Ederly (21)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
2. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Department of Pediatrics, Division of Medical Genetics, A.I. duPont Hospital for Children, Wilmington, NC, USA
4. Service de Génétique, CHU-Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
5. Department of Pediatric Genetics, Amrita Institute of Medical Sciences and Research Center, Cochin, Inde
6. Kariminejad-Najmabadi Pathology and Genetics Center, Genetics Center, Tehran, Iran
7. Department of Medical Genetics, University of Cambridge, Addenbrooke's Hospital, Cambridge, Royaume-Uni
8. Département de Génétique et Procréation, CHU de Grenoble, Grenoble, France
9. Section of Clinical Genetics, Department of Pathology, St Olavs Hospital, Trondheim, Norvège
10. Service de Génétique, Centre Hospitalier Régional Universitaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France
11. Department of Pediatrics, University Hospital Innsbruck, Innsbruck, Autriche
12. Service de Diagnostic Prénatal, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
13. Service d'Anatomopathologie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
14. Service de Neuropathologie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
15. Integragen, Evry, France
16. Center for Musculoskeletal Research, Texas Scottish Rite Hospital for Children, Dallas, USA
17. Service d'Imagerie Anténatale, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
18. Integragen, Integragen, Evry, France
19. UMR-S669, Université Paris Sud, Villejuif, France
20. Institut Universitaire d'Hématologie, UMR-S946, Université Paris Diderot, Paris, France
21. Génétique Médicale, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France

**Auteur correspondant :** Ederly Patrick (charles.edery@chu-lyon.fr)

Le syndrome MOPDI (microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type I) ou syndrome de Taybi-Linder (TALS, OMIM 210710) est un syndrome polymalformatif avec petite taille et microcéphalie de transmission autosomique récessive. Notre équipe a identifié en même temps que l'équipe d'He des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites de RNU4ATAC, un petit ARN non codant et composant du spliceosome mineur, chez des patients porteurs de ce syndrome. Ces mutations entraînent une altération de l'épissage d'un sous-groupe d'introns présents dans environ 700 gènes appelés introns U12, reconnus et excisés par le spliceosome mineur. Nous avons montré que ces mutations conduisent à la dérégulation de l'expression de certains de ces gènes. Nous rapportons ici le phénotype de 22 patients issus de 7 familles décrits dans la littérature depuis l'identification des bases génétiques du TALS et de 15 patients issus de 12 familles dont 4 cas non publiés pour lesquels nous avons identifiés une mutation de RNU4ATAC, incluant un fœtus de 25 SA pour lequel un examen fœtopathologique et neuropathologique détaillé a pu être réalisé. Les signes les plus fréquemment rapportés sont un retard de croissance intra-utérin (-5 à -11 DS) et post-natal (-4 à -8 DS), des membres courts, des contractures articulaires, un retard d'ossification épiphysaire, une microcéphalie avec malformations cérébrales (anomalies de migration, agénésie du corps calleux et hypoplasie vermienne), une déficience intellectuelle modérée, une dysmorphie faciale évocatrice, des anomalies rénales et génitales, une peau sèche, des cheveux absents ou épars et une léthalité précoce. D'autres signes peu ou pas décrits auparavant ont été retrouvés dans

cette série : polydactylie préaxiale, pouces hypoplasiques chez deux patients, hémorragie cérébrale chez un patient, craniosténose métopique chez trois patients, hypothyroïdie chez deux patients, atrésie des choanes chez un patient, anomalie pigmentaire de la rétine chez un patient et anomalie de l'émail dentaire. Deux mutations récurrentes 51G>A et 55G>A sont retrouvées dans la majorité des cas. Il semble exister une corrélation entre la sévérité du phénotype et la nature de la mutation. En effet, la survie des patients porteurs d'une mutation 51G>A à l'état homozygote ou hétérozygote composite n'excède pas 28 mois alors qu'elle va de 18 mois à 13 ans pour les autres mutations. Notre étude permet de préciser les critères diagnostiques du TALS et d'étendre le spectre phénotypique. La connaissance précise du phénotype associé aux mutations de RNU4ATAC est nécessaire d'une part à l'établissement de corrélations génotype-phénotype, et, d'autre part, à l'interprétation des études transcriptomiques que nous avons réalisés chez nos patients, afin d'identifier des gènes potentiellement candidats pour certaines anomalies associées au TALS.

**Mots-clefs** : Syndrome de Taybi-Linder, Splicéosome, RNU4ATAC

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D208/#713

---

### Utilisation du séquençage de l'exome complet pour la détermination de l'étiologie moléculaire de la surdité héréditaire chez des familles tunisienne

Zied Riahi (1), Crystel Bonnet (2), Rim Zainine (3), Malek Louha (4), Yosra Bouyacoub (1), Jean Pierre Hardelin (5), Kenneth McElreavey (6), Ghazi Besbes (3), Sonia Abdelhak (1), Christine Petit (2, 5)

1. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique- Institut Pasteur, Tunis, Tunisie.
2. INSERM UMRS 1120, UPMC-Paris 6, Institut de la Vision, Paris, France.
3. Service d'ORL et de Chirurgie Maxillo-Faciale, Hôpital La Rabta Bab Saadoun, Tunis, Tunisie.
4. Centre de référence des Surdités Génétiques, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France.
5. Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, Inserm UMRS1120, Institut Pasteur, Paris, France
6. Unité de Génétique du développement humain, Institut Pasteur, Paris, France

**Auteur correspondant** : Christine Petit (christine.petit@pasteur.fr)

Nous rapportons notre expérience du séquençage à haut débit de nouvelle génération (NGS) afin de déterminer l'étiologie moléculaire de la surdité héréditaire en Tunisie. Après l'exclusion du gène GJB2 et la majorité des mutations décrites dans notre populations touchant des gènes associés à une surdité autosomale récessive non syndromique, nous avons appliqué la technique du séquençage de l'exome complet chez six patients atteints de surdité appartenant à quatre familles Tunisiennes consanguines. Ainsi nous avons identifié quatre mutations homozygotes, une pour chaque famille. Une mutation non sens dans le gène LRTOMT p.R70X (c.208C>T), une mutation faux sens dans le gène MYO15A p.L1806P (c.5417T>C) et deux mutations de sites d'épissage la c.2260+2T>A et c.7395+3G>A touchant respectivement le gène TMC1 et le gène MYO15A. Nous avons vérifié la présence de ces mutations chez les patients et la ségrégation familiale par séquençage Sanger. Ainsi nous avons prouvé que le séquençage de l'exome complet est une technique efficace pour l'identification des mutations liées à la surdité. Il serait intéressant de mettre au point un diagnostic systématique de ces gènes afin d'établir leur prévalences dans la population tunisienne.

**Mots-clefs** : Diagnostic, Surdité, séquençage d'exome complet

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D209/#714

### Identification d'un nouveau gène d'instabilité de l'ADNmt responsable d'une atteinte neurodégénérative associée à une myopathie mitochondriale

Sylvie Bannwarth (1), Samira Saadi (1), Annabelle Chaussonot (1), Laetitia Berg-Alonso (2), Konstantina Fragaki (3), Emmanuelle Genin (4), Sandra Lacas-Gervais (5), Valérie Serre (6), Françoise Lespinasse (2), Jean-Ehrland Ricci (7), Ophélie Meynet (7), Annie Verschuere (8), Jean Pouget (8), Véronique Paquis-Flucklinger (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Archet 2, Nice, France
2. IRCAN CNRS UMR7284/INSERM U1081/UNS, Faculté de Médecine, Nice, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
4. IRCAN, CNRS UMR 7284/INSERM U1081/UNS, Faculté de Médecine, Nice, France
5. Centre Commun de Microscopie Electronique, Université Nice Sophia Antipolis, Nice, France
6. UMR7592 CNRS, Institut Jacques Monod, Université Paris Diderot, Paris, France
7. Inserm U895, équipe 3 AVENIR, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire (C3M), Nice, France
8. Service de Neurologie, Hôpital Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Paquis-Flucklinger Véronique (paquis@unice.fr)

Les pathologies mitochondriales liées à un défaut de stabilité de l'ADNmt sont très hétérogènes sur les plans clinique et génétique. Cette instabilité se traduit une déplétion de l'ADNmt, principalement associée à des formes graves de l'enfant, ou par des délétions multiples dans les tissus post-mitotiques, responsables de formes plus modérées chez l'adulte. Ces pathologies sont secondaires à des mutations dans des gènes nucléaires qui appartiennent à 3 catégories différentes: (i) gènes impliqués dans la replication et la réparation de l'ADNmt, (ii) gènes qui régulent le pool de nucléotides dans la mitochondrie comme et (iii) gènes responsables de la fusion mitochondriale.

Nous décrivons une grande famille qui présente un phénotype complexe, à début tardif, de transmission autosomique dominante. Les patients présentent une ataxie cérébelleuse, une atteinte du motoneurone et une démence frontale, associées à une myopathie mitochondriale avec délétions multiples de l'ADNmt. L'analyse histologique retrouve un grand nombre de fibres musculaires ragged-red et COX-négatives avec des mitochondries anormales en microscopie électronique. Nous observons également un déficit multiple des complexes de la chaîne respiratoire (CR) par spectrophotométrie et un défaut d'assemblage en BN-PAGE dans le muscle. L'analyse des fibroblastes de patients montre un déficit de la CR et une anomalie du réseau mitochondrial avec fragmentation, suggérant un défaut de fusion mitochondriale.

Par séquençage d'exome, nous avons identifié une mutation dans un nouveau gène, jamais impliqué en pathologie humaine, codant pour une protéine mitochondriale dont la fonction est inconnue. Nous montrons que cette protéine est présente dans l'espace inter-membranaire et qu'elle est enrichie au niveau de la jonction des crêtes mitochondriales. Les éléments en faveur de la pathogénicité de la mutation identifiée sont (i) la ségrégation familiale chez les 8 individus atteints (ii) sa présence dans un domaine très conservé de la protéine, situé dans une hélice alpha, (iii) les analyses *in silico*, (iv) son absence chez 200 individus contrôles et dans toutes les bases de données. La surexpression de la forme mutée dans des cellules HeLa entraîne une fragmentation du réseau mitochondrial, identique à celle retrouvée dans les fibroblastes des patients, contrairement à la surexpression de la forme sauvage.

Il a été montré récemment que les gènes OPA1 et MFN2, impliqués dans la fusion mitochondriale, étaient responsables de pathologies mitochondriales avec instabilité de l'ADNmt. Nous avons identifié un nouveau gène codant pour une protéine appartenant à une famille

dont certains membres sont connus pour interagir avec OPA1. Nos résultats suggèrent que le produit de ce gène, comme OPA1, pourrait jouer un rôle dans la fusion mitochondriale et/ou le maintien des crêtes.

Les perspectives de ce travail permettront de mieux comprendre le lien entre stabilité de l'ADNmt et dynamique mitochondriale.

**Mots-clefs :** Stabilité ADNmt, Dynamique mitochondriale, Maladie Mitochondriale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D210/#715

### Analyse par PCR Multiplex des microdélétions de la région AZF chez les hommes infertiles de la population marocaine

imane samri (1), laila bouguenouch (1), kaoutar ben makhlof (2), khadija belhassan (1), karim oudim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc
2. unité de génétique médicale et d'oncogénétique, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** samri imane (imane.samri@yahoo.fr)

Le chromosome Y humain est essentiel pour la détermination du sexe de l'homme et le bon déroulement de la spermatogenèse. Son bras long contient la région du facteur d'azoospermie (AZF). Des microdélétions dans cette région sont responsables de l'infertilité masculine.

La plupart des chercheurs divisent la région AZF en AZFa, AZFb et AZFc, et certains pensent qu'il y ait une autre région, AZFd, entre AZFa et AZFb. Des délétions différentes au niveau de ces régions conduisent à des phénotypes différents. Les délétions AZFc attirent une attention considérable des chercheurs, et pourraient être partielles ou totales. Une perte complète d'une région AZF, aussi appelé microdélétion AZF «classique», est toujours associée à l'infertilité masculine et des testicules pathologiques. Certaines pertes partielles peuvent donner le même tableau clinique que la délétion complète (délétions de gènes DDX3Y dans AZFa), ou peuvent ne pas être associée du tout à l'infertilité masculine (délétions BPY2, CDY1, DAZ dans AZFc).

La PCR multiplex (Multiplex Polymerase Chain Reaction) représente la méthode de choix pour révéler rapidement des microdélétions génomiques dans les grands blocs de séquences génomiques répétitives sur le bras long du chromosome Y humain.

Pour la première fois, dans une structure médicale au Maroc, à l'unité de génétique médicale et d'oncogénétique du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès, nous avons utilisé la PCR multiplex en utilisant plusieurs jeux d'amorces pour des sites (STS) de séquence étiquetée, afin de déterminer des microdélétions du chromosome Y. Le profil des patients était des hommes infertiles avec azoospermie, oligospermie ou syndrome d'oligoasthénospermie. L'objectif de cette étude est de comparer la prévalence de ces anomalies avec d'autres pays et régions du monde.

Dans les résultats préliminaires, aucune microdélétion n'a été retrouvée, mais ce test est validé pour le diagnostic et devrait être conseillé pour les hommes infertiles avant de commencer des traitements d'assistance médicale à la procréation

**Mots-clefs :** azoospermie/oligospermie/oligoasthénospermie, région AZF, assistance médicale à la procréation



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D211/#716

### Étude de corrélation phénotype-génotype de la mutation mucoviscidose E1104X

Sondess Hadj Fredj (1), Monia Boudaya (1), Sabrine Oueslati (1), Hajer Aloulou (2), Lamia Boughamouira (3), Hajer Siala (1), Amina Bibi (1), Nejla Ben Jaballah (4), Taieb Messaoud (1)

1. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza, Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Service de pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
4. Service de réanimation polyvalente, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Hadj Fredj Sondess (hadjfredjsondess@yahoo.fr)

Depuis l'identification du gène responsable de la mucoviscidose, plus de 1900 mutations différentes responsables de cette affection ont été identifiées de part le monde. La mutation F508del est la plus fréquente. Ces mutations sont regroupées en plusieurs classes selon la nature de la lésion moléculaire et le mécanisme physiopathologique en cause. Cette classification est à la base de l'étude des corrélations phénotype- génotype dans l'expression clinique de la mucoviscidose.

Nous rapportons dans le présent travail une étude de corrélation entre le phénotype et le génotype de la mutation E1104X chez une population maghrébine.

Nous avons analysé 25 patients (19 Tunisiens et 6 libyens) porteurs de la mutation E1104X. L'étude moléculaire a été effectuée par la technique de chromatographie liquide à haute pression en conditions dénaturantes (DHPLC) suivie par une réaction de séquençage.

La mutation E1104X considérée rare de part le monde est la deuxième mutation la plus fréquente dans la population tunisienne après la mutation F508 del. La fréquence élevée de cette mutation est comparable à celle rapportée dans la population libyenne. En effet, la Tunisie et la Libye deux pays voisins, qui sont fortement concernées par cette affection.

La mutation E1104X semble être une mutation sévère puisque les 21 patients porteurs de cette mutation à l'état homozygote présentaient une symptomatologie sévère de la maladie associant dans la plupart des cas une atteinte digestive avec insuffisance pancréatique et une atteinte respiratoire. Parmi ces sujets, 6 sont décédés à un âge très précoce. Nous avons noté également que l'association de cette mutation avec la mutation N1303K génère également un phénotype sévère.

D'une façon générale, la relation phénotype-génotype est très difficile à établir, due à la faible représentation de beaucoup de mutations et aux effets environnementaux modifiant le phénotype. Dans notre étude, le taux élevé de consanguinité observé nous a facilité l'analyse des corrélations de la mutation E1104X qui dans la majorité des cas a généré une expression clinique sévère.

**Mots-clefs :** Mucoviscidose, phénotype, génotype

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D212/#721

### Détection fortuite de l'HbA2' [δ16 (A13) Gly → Arg (GGC→CGC)] chez une famille Tunisienne : approche moléculaire pour le diagnostic et étude de l'origine

Chaima Abdelhafidh Sahli (1), Rym Dabboubi (1), Latifa Jouini (1), Naouel Laouini (1), Hajer Gargouri (1), Souheil Omar (2), Sondess Hadj Fredj (1), Faïda Ouali (1), Hajer Siala (1), Amina Bibi (1), Neziha Kaabachi (2) et Taieb Messaoud (1)

1. Laboratoire de Biochimie Clinique et de Biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie. Laboratoire de recherche "LR00SP03".
2. Laboratoire de Biochimie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie.

**Auteur correspondant :** Sahli Chaima (chaima\_sahli@yahoo.fr)

La β-thalassémie et la drépanocytose sont les hémoglobinopathies les plus répandues en Tunisie. Ces anémies résultent de défauts moléculaires au niveau du gène β-globine qui ont été largement étudiés dans notre pays. Toutefois, peu d'études Tunisiennes se sont intéressées aux variations du gène δ-globine malgré une fréquence estimée à environ 1%.

Dans le présent travail, nous rapportons la première description de l'HbA2' chez une famille Tunisienne originaire du Nord-Ouest. HbA2' ou HbB2 est un variant de la chaîne delta-globine-cliniquement silencieux- résultant de la substitution de la Glycine par une Arginine au niveau du codon 16 (GGC→CGC). Cette identification a été réalisée par la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Le diagnostic était confirmé sur le plan moléculaire par le séquençage direct du gène delta-globine. Le génotype alpha-thalassémique était testé pour les délétions les plus rencontrées en Tunisie (-α3.7, -Med1 and αTSaudi ) par la technique Gap-PCR.

Les sujets étudiés ont présenté un génotype alpha-thalassémique normal. L'analyse des haplotypes de restriction du cluster beta-globine, a montré que cette mutation est associée à l'haplotype Africain F (-+---+++). Nos résultats sont similaires à ceux rapportés dans des études précédentes chez des populations d'origine Sud-Africaine. En effet, l'HbA2' a été découverte d'abord en 1958 dans une communauté noire Afro-américaine, et plus tard chez les Héréro-peuple Africain du group Bantu-, en Mali et en Mauritanie avec des fréquences respectives de 18%, 12,4% et 2,16%. L'ensemble de ces données suggère une introduction de ce variant dans notre pays via un flux de gène d'origine africaine.

Le diagnostic de l'HbA2' et des variants delta-thalassémiques d'une manière générale contribue à mettre à jour le spectre de mutations delta-thalassémiques. L'identification de ce type de mutations aurait par ailleurs l'avantage de prévenir la sous-estimation de l'HbA2 en cas de présence éventuelle d'un trait beta-thalassémique concomitant.

**Mots-clefs :** variant delta, HbA2', Tunisie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D213/#725

### Robinow syndrome : a propos de trois cas tunisiens

Imen Chelly (1), Lilia Kraoua (1), Madiha Trabelsi (2), Rim Meddeb (3), Ines Ouertani (4), Faouzi Maazoul (5), Ridha Mrad (3), Habiba Chaabouni (5)

1. Service de maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolles, Tunis, Tunisie
2. Service de maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolles, Tunis, Tunisie
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolles, Tunis, Tunisie
4. Services des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolles, Tunis, Tunisie
5. Services des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolles, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Chelly Imen (imen\_chelly@yahoo.fr)

Robinow syndrome est une maladie génétique rare avec environ 200 cas décrits dans la littérature, rapportés essentiellement dans les pays Arabes, les Etats-Unis, en Turquie, République tchèque et Slovaquie, dans le sous-continent indien, et au Brésil. Ce syndrome est caractérisé par un raccourcissement mésomélique des membres, une dysmorphie faciale caractéristique type « fetal face » et des anomalies génitales. Deux formes de transmission autosomique dominante et autosomique récessive ont été décrites et elles sont définies selon des critères cliniques.

Nous rapportons dans notre travail les observations de trois patients Tunisiens atteints de syndrome de Robinow. Ces trois patients (un garçon P1 et deux filles P2 et P3) ont été adressés avant l'âge de un an à notre consultation pour une dysmorphie faciale à type de « foetal face » : facies aplati, deux bosses frontales, hypertélorisme, nez court retroussé avec des narines antéversées, philtrum long, lèvre supérieure en tente et des oreilles bas implantées ; ils présentent aussi un raccourcissement mésomélique des membres supérieurs avec des mains courtes, une brachydactylie et une hypoplasie unguéale.

Des hémivertèbres, une fusion vertébrale et costale ont été retrouvées chez le patient P1, qui présente aussi un micropénis enfoui et des testicules en place, un retard mental et une surdité profonde.

Une hépatosplénomégalie a été observée chez deux patients P1 et P2, ce signe a été rapporté chez une famille turque.

Devant ces signes cliniques, le diagnostic de syndrome de Robinow a été retenu chez ces patients. L'examen des parents n'a pas montré d'anomalies. Un complément d'explorations n'a pas montré d'anomalies rénale chez les trois patients, un défaut septal est observé chez P3, une luxation congénitale des hanches est observée chez P2 et P3 qui présente aussi une luxation de la tête radiale. Le scanner cérébral a montré une atrophie corticale chez P2, le caryotype est normal chez les 3 patients.

La forme autosomique récessive a été évoquée chez le garçon devant la fusion costale et la consanguinité et discutée chez P2 ; et la forme autosomique dominante est évoquée plutôt chez P3 devant l'absence de cette anomalie.

L'étude moléculaire du gène ROR2 a été pratiquée chez P2 et n'a pas montré de mutation.

Le diagnostic de ce syndrome est avant tout clinique, il est caractérisé par une hétérogénéité phénotypique et génétique avec le gène ROR2 muté dans la forme autosomique récessive, le gène WNT5A est muté dans moins de 10% des cas de la forme autosomique dominante. Le diagnostic prénatal est possible par l'échographie par mesure de longueur des os longs et le ratio cubitus/radius à partir de 19SA ou par étude moléculaire pour la forme autosomique récessive qui est beaucoup plus sévère.

**Mots-clefs :** Robinow syndrome, ROR2, WNT5A

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D214/#727

### Première description de la mutation 1524+5 ins C chez un sujet mucoviscidose Tunisien

Sondess Hadj Fredj (1), Chaima Sahli (1), Safa Sahnoun (1), Hajer Siala (1), Ines Brini (2), Amina Bibi (1), Khedija Boussetta (2), Taieb Messaoud (1)

1. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza, Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza, Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Hadj Fredj Sondess (hadjfredjsondess@yahoo.fr)

La mucoviscidose encore appelée fibrose kystique du pancréas, est la plus fréquente des maladies autosomiques récessives graves. Elle est causée par des mutations au niveau du gène responsable de la mucoviscidose. Les fréquences des mutations mucoviscidosiques varient selon l'origine ethnique des populations.

Nous rapportons dans le présent travail la première description de la mutation (1524+5 ins C) localisée au niveau de l'intron 9 du gène CFTR chez un patient Tunisien en association avec la mutation F508del.

Notre étude a porté sur un patient âgé de 4 ans, qui est fortement suspecté de la mucoviscidose et ayant un test de la sueur positif par iontophorèse à la pilocarpine (technique de l'Exsudose).

L'étude moléculaire a été réalisée par la technique de chromatographie liquide haute performance en conditions dénaturantes suivie par une réaction de séquençage.

L'étude clinique du malade analysé a montré qu'il présente des bronchopneumopathies récidivantes nécessitant souvent le recours à l'hospitalisation.

L'analyse moléculaire nous a permis d'identifier tout d'abord la mutation F508del en association avec une nouvelle mutation décrite pour la première fois dans le monde localisée au niveau de l'intron 9 (1524+5 ins C). Les résultats obtenus ont été confirmés par l'étude familiale qui a montré que l'un de la fratrie est également double hétérozygote, décédé à un âge précoce (6 mois).

Le phénotype sévère observé chez les deux malades confirme l'implication de cette nouvelle mutation sur l'expression clinique de la maladie en association avec la mutation F508del.

Les résultats obtenus dans le présent travail ont contribué à enrichir les bases de données épidémiologiques de la mucoviscidose en Tunisie et à établir des corrélations entre le phénotype et le génotype.

En perspectives, notre étude sera orientée vers une étude fonctionnelle de cette nouvelle variation afin de confirmer son degré de pathogénicité.

**Mots-clefs :** Mucoviscidose, DHPLC, mutation

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D215/#732

### Une acrogérie de type Gottron et des télomères courts seraient causés par un génotype hétérozygote composé pour le gène PYCR1.

Josée Lamoureux (1), Éric F Bouchard (1), Oumar Samassékou (1), Cécile Monpays (1), Ju Yan (1), Marie Farmer (2), David Dymont (3), Kim Boycott (3), FORGE Research Consortium (3), Régen Drouin (1)

1. Laboratoire de recherche transdisciplinaire en génétique, médecines et sciences sociales, Service de génétique, Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada
2. Service de neuropédiatrie, Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada
3. Children's Hospital of Eastern Ontario Research Institute, University of Ottawa, Ottawa, Canada

**Auteur correspondant :** Drouin Régen (Regen.Drouin@USherbrooke.ca)

Une fillette âgée de 10 ans souffre d'acrogérie de type Gottron, une maladie caractérisée par le vieillissement prématuré de la peau des mains et des pieds. La fillette présente également une atrophie sous-cutanée sévère, une peau fine et transparente laissant voir le réseau veineux. Elle a aussi présenté un retard de croissance observé in utero et qui demeure toujours, un micrognathie et une communication inter-auriculaire. Elle a des troubles d'apprentissage sans déficience intellectuelle de même qu'un tableau clinique de trouble d'acquisition de la coordination (TAC). Le TAC a nécessité des interventions pour faciliter sa progression à l'école. Le gène responsable de cette maladie était inconnu. Son jeune frère de 8 ans et ses parents sont en bonne santé. Dans un premier temps, nous avons vérifié son âge biologique par la mesure des télomères dans des cellules provenant de différents tissus, le sang et la peau. Les télomères sont un bon indicateur de l'âge biologique puisqu'ils sont peu à peu érodés au fil des divisions cellulaires. Leur rôle est bien connu dans le développement des cellules cancéreuses mais également dans le vieillissement cellulaire. Nous avons étudié la longueur globale des télomères mesurée par analyse Southern avec une sonde spécifique pour les télomères et par PCR quantitatif en comparant l'amplification des répétitions télomériques à celle d'un gène unique dans le sang et les fibroblastes cutanés de la patiente et des membres de sa famille immédiate. Ces études ont révélé un raccourcissement des télomères dans tous les tissus analysés de la fillette. La longueur moyenne des télomères de la fillette est plus courte que celle de son jeune frère et correspond à celle de ses parents. Le séquençage complet de l'exome par un séquençage de nouvelle génération a permis de découvrir un double variant du gène pyrroline-5-carboxylate réductase 1 (PYCR1; OMIM179035), confirmant un génotype hétérozygote composé. Les variants sont (i) p.R119H, un codon hautement conservé, (ii) une délétion de 2-bp (NM\_006907:exon3:c.213\_214del:p.71\_72del). Bien que la première mutation soit connue et associée au syndrome de Barys, le deuxième variant observé n'a pas encore été répertorié dans les banques de données et n'est associé à aucune pathologie pour le moment. Le séquençage du gène PYCR1 chez les parents a montré que chacun des allèles a été hérité d'un des parents. La protéine PYCR1 est une enzyme mitochondriale qui joue un rôle essentiel dans la biosynthèse de la proline. Elle est associée à un autre syndrome de vieillissement prématuré, le syndrome de Barys. Toutefois, aucun mécanisme direct permettant d'expliquer la relation cause à effet n'a été démontré. Cette étude confirme que le gène PYCR1 est responsable de l'acrogérie de type Gottron et d'un raccourcissement accéléré des télomères dans les globules blancs et les fibroblastes cutanés.

**Mots-clés :** Acrogérie de type Gottron - vieillissement prématuré, Gène pyrroline-5-carboxylate réductase 1 (PYCR1), Télomères - Longueur des télomères - Raccourcissement des télomères

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D216/#733

### Cinq observations marocaines d'amorause congénitale de leber

nirine aboussair (1), isabelle Perrault (2), josseline kaplan (3), jean michel rozet (3), abdelatif elmeziane (4), abdelaziz sefiani (5)

1. service de génétique, chu mohammed VI de marrakech, faculté de médecine et de pharmacie de marrahech, université cadi ayyad, marrakech, Maroc
2. Unité de Génétique et Epigénétique des maladies métaboliques neurosensorielles et du développement,, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
3. Unité de Génétique et Epigénétique des maladies métaboliques neurosensorielles et du développement, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
4. département de biologie, faculté des sciences et techniques, MARRAKECH, Maroc
5. département de génétique, institut national d'hygiène, rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** aboussair nirine (nirineaboussair@yahoo.fr)

Introduction : L'amaurose congénitale de Leber (ACL, MIM 204000) est la plus précoce et la plus sévère des dystrophies rétiniennes héréditaires puisqu'elle est responsable de cécité ou de malvoyance profonde néonatale ou périnatale. Cette affection est caractérisée par un fond d'œil normal à la naissance contrastant avec un électrorétinogramme (ERG) éteint témoignant d'une perte totale de la fonction des cônes et des bâtonnets. L'ACL est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive. Cette maladie est caractérisée par une grande hétérogénéité génétique et physiopathologique. En effet à ce jour dix sept gènes identifiés ont démontré leur implication dans la maladie : GUCY2D , RPE65 , SPATA7 , AIPL1 , LCA5 , RPGRIP1 , CRX , CRB1 , NMNAT1 , CEP290 , IMPDH1 , RD3 , RDH12 , LRAT , TULP1 , KCNJ13 , et IQCB1 . De solides corrélations phénotype-génotype ont été mises en évidence permettant de classer les patients dans 2 groupes ACL type I et ACL type II

Patients et méthodes : Nous rapportons dans ce travail, 5 observations Marocaines d'Amorause congénitale de Leber colligées aux services de Génétique Médicale du CHU Mohammed VI de Marrakech et de l'Institut National d'Hygiène de Rabat. Le diagnostic d'ACL type I ou II s'est basé sur un faisceau d'éléments généalogiques, cliniques (cécité congénitale, signe digito-oculaire, signe de l'éventail, photophobie ou héméralopie, les données de la réfractométrie ainsi que les résultats des explorations ophtalmologiques (Fond d'œil, électrorétinogramme et potentiel évoqué visuel). Par la suite, l'ADN des cas index, de leurs parents et de la fratrie a été extrait et l'étude moléculaire a été effectuée.

Résultats : La consanguinité a été retrouvée chez 3 familles parmi les 5 recensées. Le diagnostic d'ACL type I a été posé chez 3 familles, l'ACL type II chez une famille alors chez un cas on n'a pas pu trancher entre le type I et II. L'étude moléculaire a mis en évidence la mutation maghrébine c.389delC du gène GUCY2D chez une famille multiplex, la mutation c.1511\_1514 del GAGA du gène CEP290 chez une famille et la mutation c.112C>T du gène RD3 chez la 3ème famille. En revanche, l'étude moléculaire est en cours chez les 2 autres familles.

Conclusion : Le diagnostic d'amaurose congénitale de Leber ainsi que la mise en évidence de l'anomalie moléculaire permet de formuler un conseil génétique adéquat et de proposer un diagnostic anténatal pour les grossesses ultérieures.

**Mots-clés :** Acl, diagnostic moléculaire, maroc

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D217/#734

### Intérêt de la détermination du nombre de copies du gène SMN2 dans les amyotrophies spinales

Noureddine Abadi (1), Cherifa Benlatreche (1), Assia Boulefkhad (2), Madjid Hamri (2), Karima Sifi (1), Yamina Sifi (2)

1. Laboratoire de biochimie et de génétique moléculaire, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie

2. Service de neurologie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie

**Auteur correspondant :** Sifi Yamina (sifimina@yahoo.fr)

**INTRODUCTION :** Les délétions homozygotes du gène SMN1 sont le plus souvent responsables des amyotrophies spinales. La copie centromérique ou SMN2 semble le facteur modificateur principal expliquant la variabilité phénotypique observée chez les patients.

**OBJECTIFS :** L'objectif de notre travail était d'établir des corrélations entre la sévérité du phénotype et l'étendue des délétions emportant le gène NAIP et le nombre de copies SMN2.

**PATIENTS ET METHODE:** Nous avons analysé prospectivement le nombre de copies du gène SMN2 (par PCR en temps réel) et l'étendue des délétions emportant le gène NAIP (selon Roy et al 1995) chez 62 patients de phénotype amyotrophie spinale avec délétion homozygote du gène SMN1. Les données cliniques définissant la sévérité de la maladie étaient représentées par l'âge de début, l'âge du décès, les troubles bulbaire et la perte de la marche dans les SMA de type III.

**RESULTATS :** Quatre types cliniques ont été identifiés, répartis selon le consortium international et selon Zerres et al en 15 patients de type I, 12 de type II, 33 de type III et 2 de type IV. Le nombre de copies du gène SMNc variait d'une copie à cinq, il était étroitement corrélé aux groupes de sévérité clinique et à la survie. Cette corrélation était affinée lorsque l'on tenait compte de l'âge de décès dans les formes sévères et de la conservation ou non de la marche dans les formes bénignes. L'atteinte bulbaire, bien qu'étant un facteur pronostique majeur, ne semble pas améliorer ces corrélations. Une fréquence élevée de délétions dans le gène NAIP était notée dans les SMA sévères de type I (28,57 %) que dans les formes modérées de type II (20 %), III (15,78 %) et IV (0 %), les délétions du gène NAIP étaient associées à un nombre de copies du gène SMN2 moindre, suggérant qu'il s'agit d'un facteur de confusion en rapport avec des délétions étendues du locus.

**DISCUSSION:** En association avec l'âge de début des symptômes et la dernière acquisition motrice consolidée, le nombre de copies du gène SMN2 permet dans certains cas de nuancer les données pronostiques, en terme de survie et de perte de l'autonomie motrice. Néanmoins a nombre de copies SMN2 égal, il persiste des discordances suggérant l'existence d'autres facteurs modificateurs qui restent à identifier car le gène NAIP ne semble pas un bon candidat.

**CONCLUSION :** Nos résultats concordent avec les grandes séries de la littérature.

**Mots-clefs :** Amyotrophies spinales, Gène SMN, Nombre de copies SMN

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D218/#740

### Expérience diagnostique par séquençage à haut débit sur 168 patients atteints du syndrome de Bardet-Biedl : efficacité et identification de mutations non détectées par séquençage Sanger.

Habiba Bouhamed Chaabouni (1), Hélène Dollfus (2), Véronique Geoffroy (3), Bernard Jost (4), Stéphanie Le Gras (4), Jean-Louis Mandel (5), Oussema Mhamdi (1), Jean Muller (6), Claire Redin (5), Corinne Stoetzel (2), Michael Dumas (4)

1. Service des Maladies Congénitales et Héritaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

2. Laboratoire de Génétique Médicale, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

3. Plateforme de Bioinformatique, IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France

4. Plateforme Séquençage, IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France

5. IGBMC, IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France

6. Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France

**Auteur correspondant :** Muller Jean (jmuller@igbmc.fr)

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) est une maladie autosomique récessive de la classe des ciliopathies, définie par des signes cliniques incluant: dystrophie rétinienne, obésité, polydactylie, hypogonadisme, déficit cognitif variable et anomalies rénales. BBS est caractérisé par une hétérogénéité génique très importante avec 18 gènes identifiés (308 exons pour ~48kb de séquence codante) rendant compte de ~80% des familles atteintes définies par des critères cliniques stricts. Nous avons pu montrer l'utilité et l'efficacité de l'application du séquençage à haut débit couplée à la capture en phase liquide (système Sure Select) pour le diagnostic moléculaire de cette pathologie hétérogène (Redin et al JMG 2012). La stratégie diagnostique actuelle inclut en première intention une recherche des mutations récurrentes des gènes BBS1 et BBS10 puis en seconde intention le séquençage à haut débit.

Notre expérience en situation diagnostique du séquençage à haut débit inclut 168 patients pour lesquels nous avons pu établir un diagnostic moléculaire dans plus de 50% des cas. Ce taux de détection global est réduit par l'élargissement du spectre clinique et l'inclusion de patients avec phénotype incomplet et n'atteignant pas les critères dits de Beales. L'analyse des signes cliniques des patients indique que plus ils présentent des signes majeurs tels que définis par Beales, plus grandes sont les chances de détecter une mutation par ce test exhaustif.

L'identification de mutations par cette nouvelle technologie nécessite l'utilisation intensive d'algorithmes bioinformatiques à toutes les étapes du protocole (alignement sur le génome humain, détections des variants et annotation des variants). L'évolution de ces outils est un des éléments important du succès de cette technologie. Dans ce contexte, nous présenterons des situations remarquables qui ont permis d'identifier des mutations au mécanisme complexe et/ou non détectées par séquençage Sanger. Nous avons ainsi identifié des délétions hétérozygotes d'exons, insertion de séquence répétée, et enfin une mutation récurrente du gène BBS1 non détectée par Sanger, et expliquant en partie l'excès noté antérieurement de patients BBS avec la mutation hétérozygote récurrente M390R du gène BBS1, et sans 2ème allèle muté identifié.

**Mots-clefs :** Syndrome de Bardet-Biedl, Séquençage à haut débit, Diagnostic moléculaire



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D219/#741

### Prévalence et signification des variants rares de Ryr2 dans la Dysplasie arythmogène du Ventricule Droit

Significance of ryr2 mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a systematic screening

Nathlie Roux-Buisson (1), Estelle Gandjbakhch (2), Erwan Donal (3), Vincent Probst (4), Jean-Claude Deharo (5), Françoise Hidden-Lucet (6), Philippe Chevalier (7), Didier Klug (8), Etienne Delacretaz (9), Fabrice Extramiana (10), Nicolas Mansencal (11), Pierre Cosnay (12), Dagmar Keller (13), Patrice Scanu (14), Robert Frank (6), Jonathan Trapani (15), Pierre Fourt (16), Véronique Fressart (17), Julien Fauré (18), Joel Lunardi (18), Philippe Charron (19)

1. Institut des Neurosciences, Equipe Muscle et Pathologies, INSERM U836, Grenoble, France
2. Département de Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Département de Cardiologie, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
4. Institut du Thorax, Centre Hospitalo-Universitaire, Nantes, France
5. Service de Cardiologie, Hôpital La Timone, Marseilles, France
6. Département de Cardiologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Département de Cardiologie, Hôpital Est, Lyon, France
8. Département de Cardiologie, Hôpital Cardiologique, Lille, France
9. Département de Cardiologie, Hôpital de l'Île, Berne, Suisse
10. Département de Cardiologie, CHU Bichat, Paris, France
11. Département de Cardiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
12. Service de Cardiologie B, Centre Hospitalo-Universitaire, Tours, France
13. Département de Cardiologie, Hôpital Universitaire de Bâle, Bâle, Suisse
14. Département de Cardiologie, Hôpital Côte de Nacre, Caen, France
15. CHRU, Biochimie et génétique moléculaire, Grenoble, France
16. Service d'Anatomie pathologique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
17. Service de Biochimie, Unité de Cardiogénétique et Myogénétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
18. Biochimie et Génétique Moléculaire, Centre Hospitalo-Universitaire, Grenoble, France
19. Département de génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Auteur correspondant : Charron Philippe (philippe.charron@psl.aphp.fr)

#### Contexte scientifique

La Dysplasie Arythmogène du Ventricule Droit (DVDA) est causée principalement par des mutations localisées dans les gènes codant les composants du desmosome cardiaque, qui sont retrouvées dans ~50% des cas. Les mutations du gène RYR2 sont classiquement responsables des tachycardies ventriculaires catécholergiques (TVC) mais ont été aussi associées avec un phénotype atypique de DVDA nommée DVDA2

#### Objectifs

L'objectif de ce travail vise à déterminer la prévalence et le phénotype associés avec les mutations RYR2 dans une large population de patients atteints de DVDA.

#### Méthodes et résultats

Nous avons analysé l'ensemble de la séquence codante de RyR2 dans une population de 64 cas-index indépendants atteints de DVDA chez lesquels aucune mutation dans les gènes du desmosome n'avait été identifiée. Nous avons identifié six variants rares faux sens possiblement pathogènes présents à l'état hétérozygote (p.P1583S, p.A2213S, p.G2367R, p.Y2932H, p.V3219M and p.L4670V) chez six cas-index. Ces variants étaient localisés dans la région intra-cytoplasmique mais aussi transmembranaire de RyR2, contrastant avec les variants identifiés auparavant dans la DVDA, qui étaient préférentiellement localisés dans la région intra-cytoplasmique. Les patients porteurs de variants RYR2 présentaient un phénotype classique de DVDA associant des anomalies ECG typiques, des tachycardies ventriculaires monomorphes ainsi que des anomalies morphologiques du ventricule droit et la présence d'une infiltration fibro-adipeuse quand l'analyse histo-pathologique était disponible.

#### Conclusion

Dans cette première analyse systématique de l'ensemble des régions codantes de RYR2 dans une large cohorte de patients atteints de DVDA sans cause génétique identifiée, nous retrouvons de manière fréquente des variants RYR2 possiblement causaux (9% des cas-index). Ces derniers sont associés à un phénotype classique de DVDA, différent du phénotype de DVDA2 précédemment décrit, plus proche des TVC. Cette observation suggère que les variants rares RYR2 pourraient jouer un possible rôle dans les mécanismes physiopathologiques de la DVDA.

Mots-clés : Dysplasie arythmogène du ventricule droit, gène RYR2, génétique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D220/#743

### Etablissement d'un cut-off de la glucose-6-phosphate déshydrogénase pour le diagnostic des femmes conductrices du déficit: Intérêt de l'étude moléculaire.

Laouini Naouel (1), Haloui Sabrine (1), Sahli Chaima Abdelhafidh (1), Jouini Latifa (1), Othmani Rim (1), Kazdaghli Kalthoum (2), Mzoughi Neila (1), Aoun Nabila (1), Hadj Fredj Sondes (1), Siala Hajer (1), Ben Romdhane Neila (3), Toumi Nour Elhouda (4), Bibi Amina (1), Messsaoud Taieb (1)

1. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire. Hôpital d'enfants de Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie C, Hôpital d'enfants de Tunis, Tunisie
3. Laboratoire d'hématologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire d'hématologie, Hôpital d'enfants de Tunis, Tunisie

Auteur correspondant : Messaoud Taieb (taieb.messaoud@rns.tn)

Le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) est une enzymopathie érythrocytaire liée au chromosome X. Les femmes hétérozygotes présentent une mosaïque érythrocytaire résultant de l'inactivation aléatoire du chromosome X. De ce fait deux populations cellulaires s'observent: l'une avec un déficit en G6PD et l'autre avec une activité normale en G6PD. Les proportions de ces deux populations cellulaires étant variables, il en résulte des activités enzymatiques allant d'une activité normale à une activité effondrée.

Le présent travail vise à établir une valeur seuil de l'activité de G6PD pour l'identification des femmes hétérozygotes présentant un déficit partiel tout en combinant les résultats du dosage enzymatique et l'analyse moléculaire.

Notre étude a comporté 230 sujets de sexe féminin. L'activité de la G6PD a été déterminée par la méthode spectrophotométrique via un Kit de dosage de la G6PD (Laboratoires Randox, Cruclin, Antrim, Royaume-Uni). L'ADN a été extrait par la méthode de salting-out. Les échantillons ont été testés pour les mutations les plus communes en Tunisie par PCR- RFLP. Les fragments de restriction ont été séparés par chromatographie liquide à haute performance en condition dénaturante (DHPLC) (TransgenomicTM Crew, Royaume-Uni) et en mode « sizing ». L'étude statistique des résultats a été réalisée moyennant le logiciel MedCalc (version12).

Le dosage enzymatique de la G6PD ainsi que les résultats de l'analyse moléculaire nous ont permis de: classer 159 femmes comme étant normales; confirmer le déficit chez 56 femmes (48 hétérozygotes, 8 homozygotes); alors que chez 15 autres femmes (6.5%) aucune mutation n'a pu être identifiée. La moyenne d'activité enzymatique des femmes normales est de  $8.56 \pm 2.46$  UI/gHb.

L'analyse des données par courbe ROC a permis de choisir un cut-off de 5.84 UI/g Hb (sensibilité=92%, spécificité=97%) permettant de trancher entre femmes normales et femmes hétérozygotes avec déficit partiel. L'aire sous la courbe ROC (AUC) est de 0.96 et l'indice de Youden est de 89.

Les différentes méthodologies du diagnostic du déficit en G6PD présentent un problème lors de l'identification des femmes hétérozygotes. L'établissement d'une valeur appropriée de l'activité enzymatique de la G6PD en combinant dosage enzymatique et analyse moléculaire permettrait d'affiner la sensibilité de détection des sujets de sexe féminin présentant un déficit partiel. Toutefois, l'analyse moléculaire est la méthode de référence permettant de déceler les femmes hétérozygotes mais qui s'avère lourde vue la multitude des mutations affectant le gène de la G6PD.

**Mots-clefs :** Déficit G6PD, femmes hétérozygotes, Diagnostic moléculaire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D221/#745

### Aspects moléculaires de la thrombasthénie de glanzmann : à propos d'une famille marocaine

imane samri (1), laila bouguenouch (1), amale hassani (2), khadija belhassan (1), karim oudim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc  
2. service de pédiatrie, hôpital militaire mohamed V, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant :** samri imane (imane.samri@yahoo.fr)

La thrombasthénie de Glanzmann est une maladie hémorragique caractérisée par un défaut d'agrégation plaquettaire causé par une anomalie génétique qui peut toucher différents gènes. Ces gènes codent pour un groupe de protéines normalement reliées entre elles et présentes à la surface des plaquettes : il s'agit du complexe glycoprotéique IIb/IIIa (ou récepteur du fibrinogène). Les anomalies génétiques responsables peuvent être situées au sein de l'un ou l'autre des gènes ITGA2B ou ITGB3.

Ce syndrome est rare mais sa prévalence n'est pas connue. Le syndrome est transmis sur un mode autosomique récessif et touche aussi bien les hommes que les femmes. Seuls les patients homozygotes ou hétérozygotes composites sont symptomatiques.. Les formes acquises de thrombasthénie de Glanzmann sont exceptionnelles et généralement dues à la présence d'auto-anticorps dirigés contre le récepteur  $\alpha IIb\beta 3$  (GPIIb-IIIa).

Le tableau clinique de la thrombasthénie de Glanzmann est variable allant de quelques ecchymoses à des hémorragies fréquentes, sévères et parfois fatales. Les sites hémorragiques sont surtout muqueux (purpura, épistaxis, gingivorragies, ménorragies). Les saignements gastro-intestinaux et les hématuries sont moins fréquents. Dans la plupart des cas, les saignements débutent tardivement après la naissance, même si la thrombasthénie est parfois diagnostiquée plus tardivement.

Le diagnostic repose sur les saignements muco-cutanés avec l'absence d'agrégation plaquettaire en réponse aux stimuli physiologiques, associés à une numération et une morphologie plaquettaire normales. Le déficit en  $\alpha IIb\beta 3$  doit être confirmé par des anticorps monoclonaux et par cytométrie de flux. L'analyse moléculaire des gènes ITGA2B et ITGB3 permet une confirmation étiologique et un conseil génétique familial adéquat.

la prise en charge thérapeutique inclue, des hémostatiques locaux et/ou l'administration d'arginine vasopressive (DDAVP ou desmopressine), la transfusion de concentrés plaquettaires HLA-compatibles. L'administration de facteur VII recombinant est une alternative thérapeutique qui doit être prise en considération. Bien qu'elle soit une maladie hémorragique sévère, la thrombasthénie de Glanzmann, lorsqu'elle est bien prise en charge, est associée à un pronostic très favorable.

Nous rapportons le cas d'un couple, mariage consanguin avec deux enfants atteints et dont le séquençage du gène ITGB3 a révélé la présence de la mutation Cys483Arg à l'état homozygote.

A travers cette présentation, nous mettrons à jour nos connaissances sur les différents aspects de cette pathologie dont la prise en charge est assez complexe.

**Mots-clefs :** thrombasthénie de Glanzmann, gènes ITGA2B/ITGB3, biologie moléculaire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D222/#747

### Nouvelle observation de leucodystrophie métachromatique

Hassan Akallakh (1), Hanane Ait Hammou (2), Nisrine Louhab (3), Nisrine Aboussair (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Med VI, Marrakech, Maroc  
2. Service Génétique Médicale, CHU Med VI, Marrakech, Maroc  
3. Service Neurologie, CHU Med VI, Marrakech, Maroc

**Auteur correspondant :** Akallakh Hassan (akallakhassan1966@gmail.com)

Nouvelle observation de leucodystrophie métachromatique

New case of metachromatic leukodystrophy

Hassan.Akallakh(1), Hanane Ait Hammou(1), Nisrine Louhab (2), Nisrine Aboussair(1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Mohammed VI, Faculté de Médecine et de pharmacie de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Maroc

(2) Service de Neurologie, CHU Mohammed VI, Faculté de Médecine et de pharmacie de Marrakech, Université Cadi Ayyad

a.Introduction : La leucodystrophie métachromatique est une maladie neurodégénérative caractérisée par une accumulation de sulfatides (glycolipides sulfatés, particulièrement les sulfogalactosylcéramides ou sulfogalactocérebrosides) dans le système nerveux et les reins. Sa prévalence est de l'ordre de 1/40 000 à 100 000. C'est une maladie lysosomale à transmission autosomique récessive. Nous rapportons dans ce travail, un nouveau cas de leucodystrophie métachromatique, colligé au service de génétique médicale du CHU Mohammed VI de Marrakech.

b.Patient et méthodes : Il s'agit d'une fillette âgée de 03 ans et demi, consanguine 2ème degré et la benjamine d'une fratrie de deux, adressée en consultation de génétique pour une régression psychomotrice avec trouble de la parole. L'anamnèse familiale a noté une régression psychomotrice (intéressant la position assise, la marche et la parole) installée progressivement après un intervalle libre de 3 ans. L'examen clinique a mis en évidence des troubles de l'équilibre, de la parole et de la marche. L'IRM cérébrale a montré des plages lésionnelles bilatérales et symétriques de la substance blanche. Par ailleurs, le bilan rénale et ophtalmologique sont en cours.

c.Résultat et discussion : Les données généalogiques, cliniques et radiologiques sont en faveur d'une leucodystrophie métachromatique infantile tardive. Le dosage de l'activité enzymatique de l'arylsulfatase A dans les leucocytes de notre propositus a objectivé un taux effondré à 5 unités. L'ADN du cas index ainsi que de ses parents a été extrait en vu d'une étude moléculaire du gène ARSA localisé en 22q13.3qter et qui code pour l'arylsulfatase A. A ce jour, plus de 115 mutations de ce gène ont été identifiées. Ses mutations sont de novo dans 50% des cas d'où la nécessité d'effectuer le diagnostic moléculaire avant d'élaborer un conseil génétique pour cette famille.

d.Conclusion : A travers cette observation, nous soulignons l'intérêt du généticien d'une part pour le diagnostic clinique et moléculaire de cette pathologie et d'autre part pour l'élaboration d'un conseil génétique adéquat et la proposition d'un éventuel diagnostic anténatal.

Mots clés: leucodystrophie; accumulation de sulfatides; gène ARSA.

**Mots-clefs :** leucodystrophie, accumulation de sulfatides, gène ARSA.

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D223/#751

### D'une mutation fondatrice dans un élément SINE-1 à l'identification d'un long ARN non-codant dans le syndrome Ravine

Francois Cartault (1), Raphael Mategot (2), patrick munier (3), Edgar Benko (4), Sylvain Hanein (2), Eric Westhof (5), Nathalie Boddaert (6), isabelle Desguerres (7), Michael Fahling (4), Arnold Munnich (2), Stanislas Lyonnet (2), Alexandra Henrion-Caude (2)

1. Department of Genetics, Centre Hospitalier Régional de La Réunion, Saint-Denis, LA REUNION, France
2. Inserm U781, Institut Imagine-Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Département de Génétique, Centre Hospitalier Régional de La Réunion, Saint-Denis, LA REUNION, France
4. Institut für Vegetative Physiologie, Charité-Universitätsmedizin, Berlin, Allemagne
5. IBMC, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Radiologie, Hopital Necker, Paris, France
7. Neurologie, Hopital Necker, Paris, France

**Auteur correspondant :** Henrion-Caude Alexandra  
(alexandra.caude@inserm.fr)

Nous décrivons la transmission autosomique récessive d'un phénotype extrême d'anorexie infantile dans un isolat Caucasien de l'île de La Réunion. Par cartographie d'homozygotie, nous avons mis en évidence un locus dont le séquençage complet a permis de révéler une mutation ponctuelle dans un retrotransposon dégénéré SINE-1. Nous montrons que cet élément est lui-même situé dans un élément LINE-1, tous deux faisant partie d'un long ARN non-codant (lncRNA Ravine), exprimé dans le cerveau. La combinaison d'expériences de siRNA et d'antisens dans des cellules neuronales nous permet de montrer l'implication de cet lncRNA dans l'apoptose, en rapport avec le phénotype de la maladie. Par la suite, nous évaluons l'effet de la mutation sur l'expression transcriptomique dans le cerveau de patient. Les différents mécanismes mettant en jeu cet lncRNA sont présentés et discutés. Ils permettent notamment de présenter l'ensemble des mécanismes d'action connus à ce jour pour les lncRNAs.

**Mots-clefs :** Encephalopathie, Ravine, long ARN non-codant

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D224/#752

### Résultats intermédiaires du PHRC national intitulé « Etude clinique et moléculaire du syndrome CHARGE »

Marine Legendre (1), Chantal Buet (1), Frédéric Bilan (1), Alain Kitzis (1), Tania Attié-Bitach (2), Véronique Abadie (3), David Cohen (4), Priscilla Hamiaux (5), Montserrat Rodriguez-Balosteros (1), Brigitte Gilbert-Dussardier (1)

1. Service de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Service de pédiatrie générale, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
4. Département de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Département de psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hopital Pitié Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** Gilbert-Dussardier Brigitte (brigittegilb@gmail.com)

Le syndrome CHARGE est une association malformative rare, le plus souvent sporadique, associant un Colobome (C), une Cardiopathie (Heart), une Atrésie des choanes (A), un Retard de croissance (R) et des anomalies Génitales (G) et de l'oreille externe (Ear) ou une surdité, dû dans 60% des cas à une mutation dans le gène CHD7. Une étude est en cours depuis février 2012 au niveau national afin de préciser le phénotype clinique et comportemental ainsi que le profil moléculaire de la cohorte française. Nous recensons actuellement 85 inclusions dont 8 fœtus (soit 71% de l'objectif théorique pour cette période) dans 22 centres. Les inclusions se poursuivront jusqu'en Février 2014 et les données définitives seront disponible au début de l'année suivante. Nous proposons de faire un point intermédiaire sur les informations dont nous disposerons concernant la série de patients ; les données du questionnaire en ligne étant déjà disponibles, au moins partiellement, pour 57 patients (28 garçons et 23 filles). Nous comparerons les fréquences des critères diagnostiques et autres éléments cliniques à celles rapportées dans la littérature. Les données de l'histoire anténatale des patients permettront de compléter les connaissances sur le phénotype fœtal du syndrome CHARGE acquises lors d'une étude antérieure basée sur l'examen foetopathologique. Nous donnerons la répartition des formes typiques, partielles et atypiques en fonction de la présence ou non d'une mutation de CHD7 et du type de mutation. Actuellement une mutation a été identifiée dans le gène pour 78% des patients inclus. L'étude neuropsychologique est en cours et un questionnaire en ligne permettra également le traitement de ces données.

**Mots-clefs :** Syndrome CHARGE, CHD7, PHRC national

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D225/#753

### Syndrome de Dravet, aspects cliniques et moléculaires : à propos de trois cas

imane samri (1), laila bouguenouch (1), khadija belhassan (1), sanaa chaouki (2), mustapha hida (3), karim oudim (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc  
2. service de pédiatrie, hôpital Mère-Enfant, CHU Hassan II, Fès, Maroc  
3. Service de pédiatrie, hôpital Mère-Enfant, CHU Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** samri imane (imane.samri@yahoo.fr)

Le syndrome de Dravet (SD) est une épilepsie grave de l'enfant, d'origine génétique, qui débute avant l'âge d'un an par des crises convulsives, souvent déclenchées par de la fièvre.

Ce syndrome entraîne un retard de développement généralement évident après l'âge de deux ans. Les enfants ont des difficultés de langage, une mauvaise coordination des mouvements et des troubles du comportement

Le SD est deux fois plus fréquent chez les garçons que chez les filles. Dans près de huit cas sur dix : il est dû à une mutation ou délétion du gène appelé SCN1A, localisé sur le chromosome 2, et qui surviennent généralement de novo. Au moins 25% des patients atteints du SD ont des antécédents familiaux d'épilepsie ou de convulsions fébriles.

Le tableau clinique est caractérisé par une encéphalopathie épileptique qui débute pendant la première année de vie. Les crises font suite à des stimuli tels la fermeture des paupières ou la stimulation lumineuse intermittente et souvent un épisode infectieux est présent. La fréquence et la durée des crises augmentent progressivement avec un ralentissement psychomoteur en parallèle.

Les crises répondent mal aux traitements antiépileptiques mais de nouveaux médicaments sont en cours d'essai pour faire face à ce syndrome. La prise en charge peut aussi inclure un régime cétogène, des séances de physiothérapie et d'orthophonie.

le pronostic à long terme est sombre, avec un déficit cognitif et des troubles comportementaux persistants.

Nous élucidons les différents aspects de ce syndrome à travers les observations de trois garçons âgés de 4ans à 8ans avec un tableau clinique typique. Deux sont stabilisés par des antiépileptiques et le ralentissement du développement commence à ce manifester chez deux d'entre eux. L'étude du gène SCN1A par biologie moléculaire est en cours.

**Mots-clefs :** encéphalopathie épileptique, gène SCN1A, retard psychomoteur

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D226/#754

### Hypercholestérolémie familiale et exome sequencing : identification du premier patient hétérozygote composite pour une mutation de APOB et une mutation de PCSK9.

Marianne ABIFADEL (1), Gina Peloso (2), Jean-Pierre Rabès (3), James Pirruccello (4), Mathilde Varret (5), Valérie Carreau (6), Nathan Stitzel (7), Laurent Tosolini (5), Youmna Ghaleb (8), Namra Gupta (9), Stacey Gabriel (9), Alain Carrié (10), Eric Bruckert (10), Sekar Kathiresan (11), Catherine Boileau (5)

1. INSERMU698 et Faculté de Pharmacie, Hôpital Bichat; Paris et Université Saint-Joseph, Beirut, Paris- Beyrouth, Liban  
2. Center for Human Genetic Research and Cardiovascular Research Center, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School., Boston, MA., USA  
3. Laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Université Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines (UVSQ), UFR des Sciences de la Santé Paris-Ile-de-France Ouest, Montigny-le-Bretonneux, Boulogne, France  
4. Center for Human Genetic Research and Cardiovascular Research Center, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston; MA, USA  
5. INSERM U698, Hôpital Bichat, Paris, France  
6. Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Endocrinology and Nutrition Department, Human Research Nutrition Center, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France  
7. for Human Genetic Research and Cardiovascular Research Center, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School., Boston; MA, USA  
8. Faculté de Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beirut, Liban  
9. Program in Medical and Population Genetics, Broad Institute of MIT and Harvard, MA, USA  
10. INSERM UMRS939, Hôpital de la Pitié, and Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris, France  
11. Center for Human Genetic Research and Cardiovascular Research Center, Massachusetts General Hospital; Program in Medical and Population Genetics, Broad Institute of MIT and Harvard Medical School., MA, USA

**Auteur correspondant :** ABIFADEL Marianne (marianne.abi-fadel@inserm.fr)

L'hypercholestérolémie familiale est un facteur de risque majeur d'athérosclérose et de ses complications cardiovasculaires. Les gènes codant le récepteur des LDL et son ligand l'apolipoprotéine B ont été les deux gènes classiquement impliqués dans l'hypercholestérolémie familiale à transmission autosomique dominante (ADH). Notre découverte en 2003 des premières mutations de PCSK9 (proprotéine Convertase Subtilisine Kexin 9) impliquées dans l'ADH ont révélé une nouvelle cible thérapeutique très prometteuse dans l'hypercholestérolémie. Cependant, chez 19% des proposants atteints d'ADH étudiés en France, aucune mutation causale n'a été trouvée. Afin d'identifier les mutations impliquées dans la pathologie, le séquençage d'exome a été effectué dans une famille française atteinte d'ADH. Cette famille avait été sélectionnée car aucune mutation n'avait été identifiée chez le proposant par analyse MLPA du LDLR ou par séquençage direct des gènes LDLR, PCSK9 et une partie de l'APOB codant la région liant le LDLR (qui comprend une partie des exons 26 à 29). Une nouvelle mutation dans l'exon 26 de l'APOB, p.Ala3396Thr a été identifiée par exome sequencing dans cette famille. Ce variant, non identifié auparavant, présente une bonne ségrégation avec la maladie dans la famille. Par ailleurs, l'analyse des variants obtenus lors du séquençage de l'exome de quatre patients atteints de cette famille, a permis de mettre en évidence chez un de ces patients une nouvelle mutation dans l'exon 2 de PCSK9. Il s'agit du premier patient rapporté atteint d'ADH porteur aussi bien de mutations de l'APOB et de PCSK9. Ce patient de 85 ans ayant eu un infarctus du myocarde à 52 ans présente un phénotype plus sévère que les autres membres de sa famille porteurs de mutations isolées de l'APOB. Ces résultats montrent que l'exome sequencing peut aider à diagnostiquer et identifier les porteurs hétérozygotes composites dans l'hypercholestérolémie familiale.

**Mots-clefs :** Hypercholestérolémie, PCSK9, mutation



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D227/#756

### Identification de variations du gène RYR2 dans la dysplasie/cardiomyopathie ventriculaire droite arythmogène : résultat d'une étude systématique du gène RYR2 IDENTIFICATION OF RARE RYR2 VARIANTS IN ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICULAR CARDIOMYOPATHY

Nathalie Roux-Buisson (1), Estelle Gandjbakhch (2), Véronique Fressart (3), Erwan Donal (4), Vincent Probst (5), Philippe Chevalier (6), Didier Klug (7), Françoise Hidden-Lucet (2), Julien Fauré (1), Philippe Charron (2)  
1. Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Grenoble, Grenoble, France  
2. Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
3. Génétique Moléculaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
4. Cardiologie, CHU de Rennes, Rennes, France  
5. Cardiologie, CHU de Nantes, Nantes, France  
6. Cardiologie, CHU de Lyon, Lyon, France  
7. Cardiologie, CHU de Lille, Lille, France

**Auteur correspondant :** Roux-Buisson Nathalie (NRouxbuisson@chu-grenoble.fr)

#### ABSTRACT

##### Introduction

La dysplasie/cardiomyopathie ventriculaire droite arythmogène (CVDA) est associée dans environ la moitié des cas à des mutations des gènes codant pour des protéines du desmosome (PKP2, DSG2, DSC2, DSP et JUP). Le gène RYR2 code pour le récepteur de la ryanodine de type 2, un canal calcique du réticulum sarcoplasmique. C'est le gène principal impliqué dans la tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique (TVPC), mais il a été rapporté dans de rares cas de CVDA atypiques, avec un phénotype proche d'une TVPC. Le but de notre étude était de déterminer la prévalence des mutations du gène RYR2 dans la CVDA et de caractériser le phénotype associé à ces mutations.

##### Méthodes et résultats

Nous avons analysé l'intégralité de la séquence codante du gène RYR2 (105 exons) chez 64 probands avec un diagnostic de CVDA, pour lesquels les gènes du desmosome avaient été préalablement exclus. Nous avons identifié 6 variations faux-sens dans RYR2 chez 6 probands non apparentés, soit 9%. Le phénotype retrouvé chez ces 6 probands était sans particularité, associant des anomalies électrocardiographiques typiques de CVDA, avec des épisodes de tachycardies ventriculaires, et une atteinte ventriculaire droite en imagerie. L'atteinte histologique a été démontrée chez un patient pour lequel une greffe cardiaque a été réalisée.

##### Conclusion

Cette étude est la première, à notre connaissance, réalisant une étude systématique du gène RYR2 dans une importante cohorte de patients avec une CVDA. Nous avons observé que le taux de variations identifiées dans le gène RYR2 n'est pas négligeable, atteignant 9%, et que ces variations ont été retrouvées en association avec un phénotype de CVDA sans particularité, à la différence des données rapportées initialement dans la littérature. Il apparaît donc intéressant d'inclure ce gène dans le panel de gènes analysés en haut débit pour les CVDA.

**Mots-clefs :** RYR2, CVDA, Cardiomyopathie

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D228/#759

### Etude du phénotype d'une série de 60 patients atteints d'une dystrophie myotonique de type 2 ou myopathie myotonique proximale PROMM

Sébastien Moutton (1), Xavier Ferrer (2), Guillaume Bassez (3), Anthony Behin (4), Pascal Laforet (4), Tanya Stojkovic (4), Jon-Andoni Urtizberea (5), Odile Dubourg (4), Marie-Laure Martin-Negrier (6), Benoit Arveiler (1), Héléne Radvanyi (7), Bruno Eymard (4), Guilhem Sole (2)

1. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France  
2. Centre de référence des maladies neuromusculaires, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France  
3. Service de neurologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France  
4. Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
5. Service de l'Hôpital marin d'Hendaye, Hôpital marin d'Hendaye, Hendaye, France  
6. Service d'anatomie pathologique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France  
7. Laboratoire de biochimie et de génétique moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Paris, France

**Auteur correspondant :** Moutton Sébastien (sebastienmoutton@hotmail.fr)

La dystrophie myotonique de type 2 (DM2) ou PROMM (proximal myotonic myopathy) est une maladie génétique de transmission autosomique dominante due à une mutation par expansion d'un quadruplet CCTG dans l'intron 1 du gène ZNF9 situé au locus 3q21. Il s'agit d'une maladie multisystémique dont l'origine est probablement la dérégulation de l'épissage d'ARN pré-messagers dépendant de protéines dont MBNL qui sont séquestrées par l'ARN muté dans des foci nucléaires. Il existe peu de données rapportant la fréquence des manifestations extra-neurologiques en dehors de la cataracte et des troubles cardiaques. L'objectif de cette étude était donc d'évaluer la fréquence des manifestations cliniques dans la DM2, en particulier certaines atteintes rapportées plus récemment comme la surdité et l'atteinte hépatique.

Il s'agit de la plus grande série française rapportée dans cette maladie. Cette série est descriptive rétrospective et inclut des patients suivis à l'Institut de Myologie de l'Hôpital Pitié-Salpêtrière et dans le centre de référence des maladies neuromusculaires du CHU de Bordeaux entre 1996 et 2011.

Au total, 60 patients ont été inclus dans l'étude. L'âge de début moyen des symptômes était de 41,3 ans. Un déficit moteur était retrouvé dans 68% des cas avec une atteinte prédominante aux ceintures et régions proximales des membres mais aussi aux abdominaux et fléchisseurs du cou. Les signes extra-squelettiques les plus fréquents étaient la cataracte (52%), les troubles du rythme et de conduction cardiaques (42%), la surdité (42%), l'insulinorésistance (26%) et les maladies auto-immunes (22%). Notre étude a donc confirmé les données rapportées dans la littérature. En effet, les fréquences des différentes atteintes neurologiques et systémiques retrouvées étaient comparables à celles des séries décrites précédemment. La surdité est fréquemment retrouvée chez les patients atteints de DM2 et probablement sous-diagnostiquée nécessitant une surveillance régulière au même titre que le bilan cardio-pulmonaire annuel. Un bilan biologique annuel incluant NFS, glycémie et dosage des transaminases est également justifié. Les autres explorations sont indiquées sur point d'appel clinique. Le pronostic de la DM2 est principalement lié à l'atteinte cardiaque. Ceci souligne l'importance du diagnostic précoce chez les apparentés pour permettre la mise en place de la surveillance cardiologique.

**Mots-clefs :** dystrophie myotonique de type 2, PROMM, ZNF9

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D229/#762

### Le syndrome de protee : à propos de deux observations

imane samri (1), laila bouguenouch (1), khadija belhassan (1), karimouldim (1)  
1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, Maroc

**Auteur correspondant :** samri imane (imane.samri@yahoo.fr)

#### Introduction

Le syndrome de Protée est une maladie génétique complexe comprenant des hamartomes de taille importante impliquant plusieurs tissus. Elle se manifeste dès la naissance et les hamartomes grandissent au cours de la vie. Les tumeurs cancéreuses sont rares. Des tumeurs de l'ovaire, des testicules, de la parotide et des tumeurs du système nerveux sont parfois associées avec les hamartomes.

#### Matériels et méthodes

Nous rapportons deux observations concernant deux nourrissons de sexe féminin âgées respectivement de 1an et 3ans, présentant une hémihypertrophie corporelle gauche, une mégalodactylie, une répartition disproportionnée des graisses, des angiomes multiples et des lésions livédoïdes. Une banque d'ADN a été réalisée et l'étude moléculaire est en cours.

#### Discussion

Le syndrome de Protée induit une croissance excessive de multiples tissus en particulier le tissu squelettique, la peau, le tissu adipeux et le système nerveux central avec une distribution en mosaïque des lésions.

Les manifestations cliniques incluent des mégalodactylies, des anomalies vertébrales, une croissance asymétrique des membres avec inégalité de longueur, des hyperostoses, des calcifications du tissu conjonctif, et un allongement des os longs qui deviennent anormalement fins, une croissance excessive des viscères, une répartition anormale et disproportionnée des graisses, un développement asymétrique des muscles, des naevi du tissu conjonctif, des naevi épidermiques et des malformations vasculaires. Les patients ont prédisposition à développer des cystadénomes ovariens bilatéraux ou des adénomes monomorphes parotidiens. L'incidence des manifestations thrombo-emboliques ainsi que des malformations pulmonaires kystiques est également élevée.

Une mutation somatique en mosaïque du gène AKT1 a été identifiée chez plus de 90% des patients répondant aux critères diagnostiques. Ces mutations sont en général de novo et se produisent dans des cellules somatiques au début du développement embryonnaire. Le diagnostic prénatal est inutile.

#### Conclusion

Le but de cette communication est la mise à jour de nos connaissances sur la clinique et la génétique du syndrome de protéé et à travers ces deux observations nous illustrons le rôle de la prise en charge multidisciplinaire des patients pour éviter les éventuelles complications secondaires dont certaines peuvent être mortelles

**Mots-clefs :** hamartomes, mégalodactylie, gène AKT1

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D230/#763

### LE SYNDROME DE PROTEE A PROPOS DE DEUX OBSERVATIONS

laila bouguenouch (1), imane samri (2), khadija belhassan (1), karimouldim (1)  
1. UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET D ONCOGENETIQUE, CHU FES, FES, Maroc  
2. genetique medicale, chu fes, fes, Maroc

**Auteur correspondant :** bouguenouch laila (lbouguenouch@yahoo.com)

Le syndrome de Protée Induit une croissance excessive de multiples tissus en particulier le tissu squelettique, la peau, le tissu adipeux et le système nerveux central avec une distribution en mosaïque des lésions.

Les manifestations cliniques incluent des mégalodactylies, des anomalies vertébrales, une croissance asymétrique des membres avec inégalité de longueur, des hyperostoses, des calcifications du tissu conjonctif, et un allongement des os longs qui deviennent anormalement fins, une croissance excessive des viscères, une répartition anormale et disproportionnée des graisses, un développement asymétrique des muscles, des naevi du tissu conjonctif, des naevi épidermiques et des malformations vasculaires. Les patients ont par ailleurs une propension particulière à développer des cystadénomes ovariens bilatéraux ou des adénomes monomorphes parotidiens. L'incidence des manifestations thrombo-emboliques ainsi que des malformations pulmonaires kystiques est également élevée.

Une mutation somatique en mosaïque du gène AKT1 a été identifiée chez plus de 90% des patients répondant aux critères diagnostiques. Ces mutations sont en général de novo et se produisent dans des cellules somatiques au début du développement embryonnaire. Le diagnostic prénatal est inutile.

Nous rapportons deux observations concernant deux nourrissons de sexe féminin âgées respectivement de 1an et 3ans présentant une hémihypertrophie corporelle gauche, une mégalodactylie, une répartition disproportionnée des graisses, des angiomes multiples et des lésions livédoïdes. Une DNAtèque a été réalisée et l'étude moléculaire est en cours.

Le but de cette communication affichée est la mise à jour de nos connaissances sur la clinique et la génétique du syndrome de protéé et à travers ces deux observations nous illustrons le rôle de la prise en charge multidisciplinaire des patients pour éviter les éventuelles complications secondaires dont certaines peuvent être mortelles.

**Mots-clefs :** protee, assymétrie, gène AKT1

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D231/#765

### Diarrhée, rétinite pigmentaire et ataxie : identification d'une mutations homozygote dans le gène FLVCR1 comme diagnostic différentiel d'une carence en vitamine E chez un enfant présentant une hypobetalipoprotéinémie congénitale

Magalie Barth (1), Agathe Roubertie (2), Alban Ziegler (1), Estelle Colin (1), Dominique Bonneau (1), Agnès Sassolas (3), Saska Biskup (4), Agnès Guichet (1)

1. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Neuropédiatrie, CHU Montpellier, Montpellier, France
3. Biochimie, CHU Lyon, Lyon, France
4. Center for genomic and transcriptomics, Center for genomic and transcriptomics, Tubingen, Allemagne

**Auteur correspondant** : BARTH Magalie (mabarth@chu-angers.fr)

#### Introduction :

L'association d'une rétinite pigmentaire avec ataxie et diarrhée chez un patient doit faire éliminer une carence en vitamine E souvent secondaire à des défauts d'absorption ou des anomalies du métabolisme des lipides. Les signes neurologiques de ces carences débutent progressivement au cours de la deuxième décennie.

#### Cas clinique :

Nous rapportons le cas d'un patient de 8 ans issu d'un couple consanguin français. Il consulte pour l'association d'une diarrhée chronique avec ataxie et rétinite pigmentaire. L'examen clinique retrouve un poids à -3DS et une taille à -2DS. L'examen neurologique retrouve une ataxie proprioceptive avec conservation de la sensibilité épicrotique faisant évoquer une atteinte cordonnale postérieure. Les réflexes ostéotendineux sont faibles aux membres inférieurs.

Le bilan biologique retrouve une hypocholestérolémie (cholestérol total à 0,96g/l (normes : 1,6 à 2,2 g/l)) avec des valeurs effondrées de LDL cholestérol (0,32g/l). Le dosage de l'apolipoprotéine B est abaissé à 0,42 g/l (normes 0,55 à 1,35 g/l). Le dosage de la vitamine E est abaissé à 10,5 µmol/l (normes : 23 à 34,8 µmol/l).

Le diagnostic d'hypolipoprotéinémie familiale est confirmé par l'identification de deux mutations hétérozygotes composites dans le gène de l'apoB (c.3337 GAC>CAC et c.3383 CGT>CAT).

Devant l'atteinte neurologique précoce et d'évolution rapide, l'implication de la carence en vitamine E seule est remise en question.

Un examen en CGH array est réalisé et montre une zone de LOH en 1q24.2q32.3 d'une taille de 44Mb incluant le gène FLVCR1.

Le séquençage du gène FLVCR1 a retrouvé une mutation homozygote pathogène c.839G>C.

#### Discussion :

L'hypolipoprotéinémie familiale est une maladie dont les manifestations sont stéatose hépatique et diarrhée chronique.

Les manifestations neurologiques d'une carence vitaminique E secondaire à la diarrhée, à type d'ataxie proprioceptive et de rétinite pigmentaire ne débutent en général pas avant l'adolescence. Devant l'atteinte neurologique précoce de notre patient, nous avons suspecté chez lui le syndrome PCARP (posterior column ataxia with retinitis pigmentosa). En 2010, l'équipe du Dr Radjadhaksha a rapporté l'implication du gène FLVCR1 dans ce syndrome.

Notre famille étant consanguine, nous avons tout d'abord identifié par CGH array une zone de LOH au niveau locus de ce gène. Le séquençage du gène a ensuite été effectué et une nouvelle mutation c.839G>C pathogène identifiée.

#### Conclusion :

FLVCR1 est un gène responsable d'un syndrome associant ataxie proprioceptive par atteinte

de la colonne postérieure et rétinite pigmentaire. Son implication doit être suspectée comme diagnostic différentiel des manifestations neurologiques d'une carence en vitamine E.

**Mots-clés** : FLVCR1, Ataxie, Rétinite pigmentaire

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D232/#766

### Forme autosomique récessive de la dysplasie dentinaire type I chez une famille marocaine consanguine

Fatima Zahra Laarabi (1)

1. Département de génétique médicale, Institut national d'hygiène, Rabat, Maroc

**Auteur correspondant** : Laarabi Fatima Zahra (fz\_laarabi@yahoo.fr)

La dysplasie dentinaire est une anomalie de la structure dentinaire qui affecte les dents temporaires et définitives. C'est une maladie génétique rare de transmission autosomique dominante, sa prévalence est de 1/100 000. Elle est classée en 2 types: la dysplasie dentinaire type I, qui affecte la dentine radulaire et dont l'anomalie moléculaire est inconnue; la dysplasie dentinaire type II, qui affecte la dentine coronale, de transmission autosomique dominante et dont le gène causal est le gène DSPP (Dentin sialophosphoprotein gene).

Nous rapportons le cas d'une famille marocaine consanguine avec 4 cas de dysplasie dentinaire type I, et des données généalogiques qui évoquent une transmission autosomique récessive.

L'utilisation de marqueurs polymorphes encadrant le gène DSPP, nous ont permis d'exclure ce gène, ce qui nous a permis de rejeter l'hypothèse que la dysplasie dentinaire type I soit allélique à la dysplasie dentinaire autosomique dominante.

Nous avons également exclu le gène SMOC2 qui a été récemment identifié comme un gène causal dans la dysplasie dentinaire de type I. Cette famille, représentée, à notre connaissance, la 1ère description d'une dysplasie dentinaire type I, de transmission autosomique récessive, et dont l'anomalie moléculaire reste à identifier.

Ceci ouvrira la voie vers l'identification d'un nouveau gène impliqué dans la dysplasie dentinaire.

**Mots-clés** : Dysplasie dentinaire, DSPP, SMOC2

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D234/#771

### Description d'une série rétrospective de patients porteurs d'un déficit en transporteur intracérébral du glucose : caractéristiques phénotypiques et réponse au régime céto-gène

Nada Houcinat (1), Aline Cano (2), Brigitte Chabrol (3)

1. Génétique médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
2. centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Timone, Marseille, France
3. centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Timone, Marseille, France

**Auteur correspondant :** Houcinat Nada (nada.houcinat@hotmail.fr)

La maladie de De Vivo ou déficit du transporteur intracérébral du glucose Glut-1 (OMIM 606777) est une maladie autosomique dominante rare (200 patients rapportés dans le monde). Elle est due à un déficit énergétique intracérébrale, il s'agit d'une urgence diagnostique car traitable par la mise en place précoce d'un régime céto-gène. Le but de ce travail a été de décrire une série rétrospective de patients atteints de déficit en GLUT-1, afin de préciser leurs caractéristiques phénotypiques et d'évaluer la réponse au régime. Nous avons recruté dix patients, 6 filles et 4 garçons âgés de 3 ans à 7 mois à la dernière évaluation. L'épilepsie et les troubles du mouvement constituaient les deux principaux symptômes de la maladie. 8/10 patients avaient une épilepsie à début précoce (avant l'âge de 2 ans), le plus souvent pharmaco-résistante mais pas toujours. 9/10 patients avaient des mouvements anormaux fluctuants à type de dystonie ou de chorée. La majorité d'entre eux avaient également une ataxie à début précoce. L'examen neurologique était souvent anormal retrouvant un syndrome cérébelleux et un syndrome pyramidal. La déficience intellectuelle chez nos patients était de sévérité variable avec au minimum des difficultés scolaires et un déficit du langage prédominant. La microcéphalie connue pour un être un signe majeur dans le phénotype classique, rapporté initialement par De Vivo, n'a été retrouvée que chez 3/10 de nos patients même pour les plus âgés d'entre eux. Cependant, un ralentissement de la courbe de croissance du périmètre crânien a été retrouvé chez trois autres patients. Sur le plan paraclinique, l'IRM cérébrale et le tracé EEG intercritique étaient aspécifiques et parfois normaux. L'élément diagnostique restait l'hypoglycorachie avec un rapport Glycorachie/glycémie toujours

**Mots-clés :** GLUT 1, régime céto-gène, De Vivo

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D235/#772

### Spectre mutationnel de la pathologie de Xeroderma Pigmentosum de groupe-C chez les patients Tunisiens

Manel Jerbi (1), Meriem Ben Rekaya (1), Olfa Messaoud (1), Sabrine Ben Brick (1), Mohamed Zghal (2), Meriem Jones (1, 2), Ayda Khaled (1,2), Mourad Mokni (3), Hammouda Boussen (1, 4), Becima Fazaa (1, 2), Ahlem Amouri (1), Mohamed Samir Boubaker (1, 5), Sonia Abdelhak (1), Houda Yacoub-Youssef (1)

1. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique, IPT, Tunis-Bélvédère, Tunisie
2. Dermatologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
3. Dermatologie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie
4. Département d'Oncologie Médicale, Hôpital Abderrahman Mami, Tunisie
5. Laboratoire d'Anatomie Pathologique Humaine et Expérimentale, IPT, Tunisie

**Auteur correspondant :** Yacoub-Youssef Houda (houda.yacoub.youssef@gmail.com)

Le Xeroderma pigmentosum (XP) est une gnodermatose rare et sévère. Il s'agit d'une maladie génétique hétérogène caractérisée par une sensibilité extrême aux ultraviolets induisant des lésions cutanées et oculaires et des cancers cutanés multiples. Il est subdivisé en 8 groupes de complémentation selon le gène atteint: le XP classique (XP A à G) et le XP variant (XP-V). Le groupe XP-C est le plus fréquent en Europe, Afrique, et aux Etats Unis. Cette forme est caractérisée par un taux de mortalité assez important et précoce en raison de l'accumulation frappante de cancers de la peau, bien qu'ils ne présentent pas des anomalies neurologiques.

L'objectif de cette étude était d'identifier le spectre mutationnel du groupe XP-C en Tunisie.

En collaboration avec des centres hospitaliers (Charles Nicolle, Habib Thameur et Rabta), nous avons collecté les data cliniques de 64 patients atteints de XPC, appartenant à 47 familles. Parmi eux, 85% des familles étaient consanguines. L'analyse génétique a été réalisée par le génotypage et le séquençage direct du gène XPC.

Nous avons trouvé chez les patients XPC, de multiples cancers cutanés et des tumeurs solides. En effet, dans notre cohorte: (i) 62.5 % des patients ont développé le Basal Cell Carcinoma (BCC), (ii) 48.43% ont développé le Spino Cell Carcinoma (SCC) et 23.43% seulement ont développé un mélanome. En plus des cancers cutanés, les patients XPC, ont développé des cancers solides. Concernant l'investigation moléculaire, nous avons montré que 91% des patients XP-C présentent la mutation XPC p.V548AfsX25, qui est une mutation fondatrice et qui se trouve dans différentes régions de la Tunisie et plus particulièrement dans trois villes. Cette mutation a été précédemment décrite dans les populations Nord Africaine et dans la région du Magreb. Plus récemment, nous avons identifié deux nouvelles mutations dans un petit groupe de patient qui présentent un phénotype plus léger du XP-C, il s'agit de la mutation c.850G>T (6.38 % des cas) et la mutation c.799 +1G>A (2.12% des cas).

Le XP-C est le groupe le plus fréquent en Tunisie. L'identification du spectre mutationnel de patients XP-C a beaucoup facilité le dépistage en cascade génétique auprès des membres de familles de ces patients.

**Mots-clés :** Xeroderma pigmentosum groupe C, mutation, cancer de la peau



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D236/#775

### Déficit en G6PD : hétérogénéité génotypique et phénotypique

Kamran Moradkhani (1), Arienne Mirmiran (2), Olivier Pichon (1), Henri Wajcman (2), Frédéric Galactéros (3), Serge Pissard (2), Michel Goossens (4)  
1. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France  
2. Génétique, CHU de Mondor, Créteil, France  
3. Unité des Maladies Génétiques du Globule Rouge (UMGGR), CHU de Mondor, Créteil, France  
4. Génétique, Inserm U955, Créteil, France

**Auteur correspondant :** Moradkhani Kamran (kamikimi@yahoo.com)

La Glucose-6-phosphate deshydrogenase (G6PD, OMIM # 305900) catalyse la première étape de la voie des pentoses phosphates. Le gène de cette enzyme est porté par le chromosome X. Sa déficience est l'enzymopathie héréditaire la plus fréquente. Elle toucherait plus de 500 millions de personnes à travers le monde. Aujourd'hui, en France, environ 450.000 déficitaires. Chaque année, sur 800.000 naissances en France, 150.000 sont des nouveaux nés "à risque" dont 9.000 sont atteints de déficit en G6PD.

Selon une classification proposée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les variants de G6PD sont divisés en 4 classes. La classe I, plutôt rare, est caractérisée par une activité enzymatique presque abolie et une anémie hémolytique chronique non sphérocytaire, nécessitant des transfusions régulières chez les sujets de sexe masculin. Les déficitaires ont hérité, dans la majorité des cas, l'allèle délétère de leur mère, souvent asymptomatique. L'absence d'anomalie biologique chez les femmes s'explique essentiellement par une sélection somatique supprimant très précocement la lignée déficitaire. Inversement, les variants de la classe II et III impliquent une activité résiduelle suffisante pour éviter les manifestations cliniques chroniques. Cependant, l'ictère néonatal et/ou la crise hémolytique aiguë secondaire à l'ingestion de fèves ou à la prise de certains médicaments oxydants sont fréquents. Ces deux types de variants étaient initialement fréquents dans toutes les régions tropicales et subtropicales du globe en raison de la protection qu'ils procurent lors de l'infection de paludisme.

Alors que l'on s'attendrait à ce que tous les sujets hétérozygotes pour un déficit en G6PD de type II&III présentent une activité enzymatique de 50% de la normale on observe une grande dispersion des valeurs. Nous avons étudié l'état d'inactivation des deux chromosomes X, par HUMARA, chez 75 hétérozygotes pour des variants de type II/III. Le résultat de cette étude montre une bonne corrélation entre le niveau de méthylation du chromosome X normal et le taux d'activité enzymatique résiduelle.

L'étude de l'inactivation chez les hétérozygotes pour un variant de type I confirme l'existence d'une sélection somatique dans la moelle de la lignée normale qui est présente également dans le sang périphérique. En cas d'une inactivation préférentielle d'un des chromosomes X (âge avancé, anomalie de structure du chromosome X et ...) les femmes porteuses d'un trait délétère (de type I) peuvent être symptomatiques. Nous présenterons différents tableaux cliniques des sujets porteurs (hétérozygote ou hémizyote) d'un variant de type I, et discuterons de l'intérêt de l'étude génétique et ses conséquences importantes pour un conseil génétique.

**Mots-clefs :** déficit en G6PD, Favisme, inactivation de l'X, HUMARA, inactivation préférentielle d'un chromosome X, transmettrice symptomatique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D237/#777

### Typage moléculaire de sujets HbH tunisiens

Maroua Mansri (1), Awatef Mejri (1), Khaoula Razgallah (2), Hajer SIALA (3), Faïda Ouali (4), Amina Bibi (5), Taieb Messaoud (6)  
1. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis, Tunisie  
2. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis, Tunisie  
3. Laboratoire de Biochimie Clinique, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunisie  
4. \*Laboratoire de Biochimie Clinique – Hôpital d'Enfant Béchir Hamza Tunis, Tunisie  
5. Service de Biochimie Clinique, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunisie  
6. \*Laboratoire de Biochimie Clinique, –Hôpital d'Enfant Béchir Hamza Tunis, Tunisie

**Auteur correspondant :** Siala Hajer (hajer.siala@rns.tn)

L' $\alpha$ -thalassémie est une pathologie qui constitue un groupe d'anomalie héréditaire avec des phénotypes variés et qui dépendent essentiellement du nombre des gènes alpha globine fonctionnels dans le génome. La nature des mutations causales diffère d'un pays à un autre allant de la mutation ponctuelle à des larges.

Le défaut moléculaire le plus fréquent dans l' $\alpha$ -thalassémie est la délétion –  $\alpha$ 3.7 prédominante observée en Afrique, en Asie et en méditerranée. Plus de 40 différentes délétions  $\alpha$ 0-thalassémie ont été décrites. Plusieurs délétions ont été considérées comme une délétion  $\alpha^0$ -thal alors qu'elles ne délètent pas la totalité du cluster citant comme exemple la délétion  $\alpha$  20.5 qui ne délète que 20.5 Kb du cluster éliminant tout le gène  $\alpha$ 2 et une petite partie du gène  $\alpha$ 1 mais elle est considérée comme si les 2 gènes sont absents.

Plusieurs facteurs rendent la détection de l'– $\alpha$ 3.7 difficile telle que la nécessité d'amplifier un fragment de grande taille et la richesse de la séquence en GC. Pour pallier à ces difficultés nous avons eu recours à l'utilisation du coffret « GoTaq® long PCR Master Mix » (Promega).

La recherche des défauts moléculaires responsables d'  $\alpha$ -Thal se fait suivant une stratégie particulière et commence toujours par la recherche de la délétion –  $\alpha$ 3.7 qui est la plus fréquente suivi en cas de sa présence par la recherche de larges délétions telle que la Med I, l' $\alpha$ 20.5 ce qui correspondrait à la délétion de trois gènes et justifierait le phénotype Hb H.

Ce travail a été mené sur 20 malades suspects porteurs d' $\alpha$ -thalassémie suivis à l'hôpital d'enfant Béchir Hamza de Tunis dont l'ADN a été extrait par la méthode du phénol/chloroforme suivi par une PCR multiplex en utilisant les réactifs du coffret « GoTaq® long PCR Master Mix ». Le contrôle du produit PCR sur un gel d'agarose 2% permet de visualiser une bande de 2217pb pour un sujet normal(aa/aa), deux bandes de 2213pb et 1963pb pour un sujet à l'état hétérozygotes (- $\alpha$ 3.7/aa), et une seule bande de 1963pb pour un sujet portant la délétion – $\alpha$ 3.7 à l'état homozygote (- $\alpha$ 3.7/- $\alpha$ 3.7).

Pour les sujets portant la délétion – $\alpha$ 3.7 à l'état homozygote, on est orienté à rechercher des larges délétions tel que la MED I en 1er lieu puisque elle est la plus fréquente en Tunisie et puis on passe à la recherche de la délétion alpha-20.5 .le contrôle du produit PCR pour ces individus sur gel d'agarose 1.5% nous permet de visualiser deux bandes de 1000pb et 1180pb.

Le présent travail a permis d'identifier parmi les sujets testés : deux sujets alpha-thalassémiques homozygotes pour la – $\alpha$ 3.7(- $\alpha$ 3.7/- $\alpha$ 3.7)et hétérozygotes pour la délétion alpha-20.5 (alpha-20.5/alpha alpha) et deux sujets hétérozygotes (- $\alpha$ 3.7/aa). La mise au point d'une telle technique permettra désormais de trancher rapidement quant la présence d'une alpha-thalassémie silencieuse qui ne peut l'être que par l'étude moléculaire

**Mots-clefs :** alpha-thalassémie, typage moléculaire, délétion

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D238/#778

### Des mutations de type perte de fonction dans KIF1C rendent compte d'ataxie spastique autosomique récessive (SAX2)

Laure Raymond (1), Naima Bouslam (2), Marion Gaussen (1), Ahmed Bouhouche (2), Christel Depienne (3), Marine Giry (3), Sylvain Hanein (3), Vincent Meyer (4), Yannick Marie (3), Filippo Santorelli (5), Jean-François Deleuze (6), Ali Benomar (2), Alexis Brice (3), Mohamed Yahyaoui (2), Giovanni Stevanin (1)

1. Equipe de Neurogénétique EPHE, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, UPMC Univ Paris VI UMR\_S975; CNRS UMR 7225; INSERM U975 ; NEB, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France,
2. Université Mohammed V Souissi, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Equipe de recherche des maladies neurodégénératives (ERMN), 6402 Rabat, Morocco,
3. CRICM, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, UPMC Univ Paris VI UMR\_S975; CNRS UMR 7225; INSERM U975 ; NEB, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France,
4. CNS, Genoscope, 91057 Evry, France,
5. IRCCS, Fondazione Stella Maris, Calambrone, Pisa, Italy,
6. CNG, Centre National de Génotypage, 91057 Evry, France,

**Auteur correspondant :** Stevanin Giovanni (giovanni.stevanin@upmc.fr)

Les ataxies spastiques sont des maladies neurodégénératives récapitulant les caractéristiques cliniques des ataxies cérébelleuses et des paraparésies spastiques. Les formes récessives sont souvent causées par des mutations ou réarrangements du gène SACS et rendent compte de l'ataxie dite de Charlevoix Saguenay (ARSACS, MIM#270550) dans laquelle une neuropathie, des anomalies au fond d'œil et une atrophie vermieenne sont au cœur du phénotype typique. Au moins deux autres loci génétiques sont impliqués, dont SAX2 localisé sur le chromosome 17 (Bouslam et al, Hum Genet 2007).

Par une approche combinant une analyse de liaison génétique du génome sur puce SNP (LINKAGE\_24, Illumina) et le séquençage de l'exome (Capture Agilent et séquençage Hiseq Illumina) sur une famille marocaine consanguine avec ataxie spastique, nous avons pu localiser le gène responsable sur le chromosome 17 dans la région SAX2 et identifier dans les données de séquençage, une mutation faux sens (c.505C>T, p.R169W) homozygote dans le gène KIF1C, se transmettant avec la maladie et absente des contrôles. L'analyse rétrospective de la famille SAX2 initialement décrite par Bouslam et al (2007) par puce CGH 1M (Agilent) a montré une délétion des exons 14 à 18, confirmant l'absence d'amplification de ces exons chez l'ensemble des sujets atteints.

KIF1C code pour une kinesine abondante dans le cervelet et nécessaire au transport antérograde des vésicules le long des axones. Nos résultats confirment l'importance du trafic intracellulaire dans les pathologies neurodégénératives.

**Mots-clefs :** paraparésie spastique, ataxie, transport axonal

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D239/#780

### Corrélation entre le développement d'inhibiteur anti-FVIII et les mutations du gène du F8 responsable de l'hémophilie A dans la population Ouest Algérienne

Meriem Abdi (1), Mostefa Fodil (1), Meriem Aberkane (1), Mohamed Belazaar (2), Malika Mehalhal (3), Naima Mesli (4), Khadidja Moulay Serdoune (5), Yasmina Rahal (5), Hadj Touhami (5), Abdallah Boudjema (1), Saidi-Mehtar Nadhira (1), Faouzia Zemani-Fodil (1)

1. Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran -Mohamed Boudiaf-, Oran, Algérie
2. Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire de Sidi Bel Abbes, Sidi Bel Abbes, Algérie
3. Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire de Mascara, Mascara, Algérie
4. Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen, Tlemcen, Algérie
5. Service d'hématologie, Centre Hospitalo-universitaire d'Oran, Oran, Algérie

**Auteur correspondant :** ABDI MERIEM (meriem.rym.abdi@gmail.com)

L'hémophilie A (HA) est une maladie hémorragique transmise selon le mode récessive liée à l'X. Le développement d'inhibiteur anti-facteur VIII représente la plus grave complication du traitement chez les patients HA. Ces inhibiteurs se produisent dans environ 30% chez les patients sévèrement atteints à la suite d'un processus complexe impliquant des facteurs génétiques et environnementaux multiples. L'un des plus importants prédicteurs du risque de développement d'inhibiteurs dans l'HA est le type de mutation au niveau du gène du facteur 8. Notre objectif était, dans un premier temps, de détecter la présence d'inhibiteur dans un groupe de 24 patients hémophiles originaires de l'Ouest Algérien. Nous avons ensuite recherché les mutations du gène du facteur 8 chez ces patients. Le titrage des inhibiteurs anti-FVIII a été réalisé selon le protocole de Bethesda/Nijmegen. Les micro-inversions de l'intron 22 et 1 ont été respectivement détectées par PCR Longue Rang et PCR Multiplex. Les patients négatifs pour ces deux micro-inversions ont été analysés à l'aide d'un séquençage direct. En plus des deux types de micro-inversions, nous avons retrouvé des mutations de type nonsense, missense, une mutation au niveau d'un site donneur d'épissage ainsi qu'un polymorphisme. Concernant le développement des inhibiteurs anti-facteur VIII, nos résultats sont en corrélation avec ce qui a été rapporté dans la littérature. En Effet, nous avons constaté que seule les mutations causant l'absence totale de protéines (la micro-inversion de l'intron 22 et les mutations nonsense) sont associées au risque de développement des inhibiteurs. De plus, nous avons remarqué que les mutations de type nonsense sont associées à un risque plus élevé au développement des inhibiteurs par rapport à celui de la micro-inversion de l'intron 22. Cette étude devra s'étendre sur un échantillon plus large afin de mieux définir le profil génétique propre de notre population.

**Mots-clefs :** Hémophilie A, inhibiteur anti-FVIII, Facteur 8

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D240/#782

### Implication du gène FIG4 dans une épilepsie avec polymicrogyrie.

Stéphanie BAULAC (1), Guy M LENK (2), Bouchra BOUCHRA OULED AMAR (3), Philippe COUARCH (1), Béatrice DUFRESNOIS (1), Peter A. LARSON (4), Cole J FERGUSON (4), Eric NOE (1), Karine POIRIER (5), Christine HUBANS (6), Stéphanie FERREIRA (6), Renzo GUERRINI (7), Reda OUZZANI (3), Khalid Hamid EL HACHIMI (8), Miriam H MEISLER (4), Eric LEGUERN (9)

1. U975, INSERM, CRICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Department of Human Genetics, University of Michigan, Ann Arbor, USA
3. Service de Neurophysiologie Clinique, Hôpital des Spécialités, Centre Hospitalier Ibn Sina (CHIS), Rabat, Maroc
4. Department of Human Genetics, University of Michigan, Ann Arbor, USA
5. Genetics and Pathophysiology of neurodevelopmental and neuromuscular diseases, Institut Cochin, Paris, France
6. Sequencing, Genoscreen, Lille, France
7. Neuroscience Department, Children's Hospital A. Meyer, University of Florence and IRCCS Stella Maris, Pisa, Italie
8. Laboratoire de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Paris, France
9. U975, INSERM, UPMC, CRICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Auteur correspondant :** BAULAC Stéphanie (stephanie.baulac@upmc.fr)

Les polymicrogyries (PMG) sont des anomalies de l'organisation du cortex cérébral secondaires à des troubles du développement postérieurs à la migration neuronale. Le cortex cérébral est localement plus épais avec une augmentation des sulci (« sillons »). Les manifestations cliniques sont fonction de la localisation et de l'étendue des lésions. Les patients peuvent être asymptomatiques ou développer un phénotype sévère qui peut associer de façon variable, une épilepsie pharmaco-résistante, des déficits cognitifs et des atteintes neurologiques. Les PMG peuvent être acquises ou génétiques. Les modes de transmission des formes génétiques sont variables et plus d'une quinzaine de gènes a été identifiée.

Nous avons eu l'opportunité d'étudier au plan phénotypique et génétique une grande famille avec consanguinité d'origine marocaine dans laquelle ségrègeait une épilepsie partielle associée à une PMG pariéto-occipitale. Les 6 patients avaient une épilepsie de sévérité variable mais aussi des troubles psychiatriques qui étaient, chez certains, au premier plan. Par linkage, nous avons localisé le locus sur le chromosome 6q16-q22 ( $Z_{max} > 3.00$ ). Ensuite, par séquençage de l'exome, nous avons identifié dans l'intervalle candidat un unique variant faux-sens dans le gène FIG4 à l'état homozygote, qui n'était répertorié dans aucune base de données sur le génome humain et qui était absent de 450 témoins d'origine maghrébine. En appliquant un test fonctionnel basé sur la transfection du cDNA mutant dans des fibroblastes de la souris déficiente en fig4, nous avons confirmé que le variant altérait la fonction de la protéine. De plus, l'analyse du cortex à P0 et P4 chez la souris fig4<sup>-/-</sup> a montré des anomalies du développement cortical compatibles avec celles responsables de PMG.

Le gène FIG4, qui code pour une phosphoinositol phosphatase, a déjà été incriminé dans une neuropathie héréditaire, la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 4J, et dans le syndrome de Yunis-Varon qui associe un syndrome malformatif, une neurodégénérescence des systèmes nerveux central et périphérique et une mort prématurée. Les données des tests fonctionnels et le caractère des mutations expliqueraient ce large spectre phénotypique associé aux mutations de FIG4.

**Mots-clefs :** Polymicrogyrie, Epilepsie, Gène FIG4

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D241/#786

### Phenotypic Variation Among Seven Members of One Family with Deficiency of Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyltransferase

Julie Cahu (1), Franck Augé (2), Brigitte Chabrol (3), Rong Fu (4), Buz Jinnah (5), Morgan Ledroit (6), Anne Olivier-Bandini (7), Irène Ceballos-Picot (1)

1. Laboratoire de Biochimie métabolique et protéomique, Hôpital Necker-Enfants Malades, 75015 Paris, France
2. Exploratory Unit, Sanofi R&D, 91385 Chilly-Mazarin, France
3. Department of Pediatrics, Hôpital de la Timone, Marseille, France
4. Departments of Neurology, Human Genetics and Pediatrics, Emory University, Atlanta GA., USA
5. Neurology department, Emory University, Atlanta, USA
6. Biochimie métabolique et protéomique, Hôpital Necker, Paris, France
7. Exploratory Unit, Sanofi, Chilly-Mazarin, France

**Auteur correspondant :** Ceballos-Picot Irène (irene.ceballos@nck.aphp.fr)

We describe a family of seven boys affected by Lesch-Nyhan disease with various phenotypes. Further investigations revealed a mutation c.203T>C in the gene encoding HGprt of all members, with substitution of leucine to proline at residue 68 (p.68Leu>Pro). Thus patients from this family display a wide variety of symptoms although sharing the same mutation. Mutant HGprt enzyme was prepared by site-directed mutagenesis and the kinetics of the enzyme revealed that the catalytic activity of the mutant was reduced, in association with marked reductions in the affinity towards phosphoribosylpyrophosphate (PRPP). Its  $K_m$  for PRPP was increased 215-fold with hypoxanthine as substrate and 40-fold with guanine as substrate with associated reduced catalytic potential. Molecular modeling confirmed that the most prominent defect was the dramatically reduced affinity towards PRPP. Our studies suggest that the p.68Leu>Pro mutation has a strong impact on PRPP binding and on stability of the active conformation. This suggests that factors other than HGprt activity per se may influence the phenotype of Lesch-Nyhan patients.

**Mots-clefs :** Lesch-Nyhan, hypoxanthine phosphoribosyltransferase, molecular modeling

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D242/#787

### Mutations du gène WNT10A, vers un phénotype cutané caractéristique

Christine Bodemer (1), Jean-Paul Bonnefont (2), Céline Cluzeau (3), Sofia Dos Santos (2), Smail Hadj-Rabia (1), Marguerite Jambou (2), Asma Smahi (4)  
1. Dermatologie, Necker-Enfants Malades, Paris, France  
2. Laboratoire de Génétique, Necker-Enfants Malades, Paris, France  
3. INSERM 781, Necker-Enfants Malades, Paris, France  
4. INSERM 781, Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Auteur correspondant :** Hadj-Rabia Smail (smail.hadj@inserm.fr)

La dysplasie ectodermique anhidrotique (DEA) est une génodermatose rare caractérisée par une hypo/anodontie, une hypo ou anhidrose, une raréfaction de la pilosité ; les ongles sont parfois atteints. L'hétérogénéité génétique est connue. Jusqu'à présent, trois gènes codant pour des protéines, appartenant à la voie NF-kappa B, rendaient compte de formes transmises selon le mode récessif lié au chromosome X (gène EDA1 codant l'ectodysplasine, autosomique dominant ou récessif (gènes EDAR sur le chromosome 2 et EDARRAD sur le chromosome 1). Plus récemment, un quatrième gène, WNT10A a été impliqué dans des formes autosomiques récessives et dominantes moins sévères. Nous analysons le phénotype de 57 patients.

#### Méthodes

Analyse du phénotype des cas index atteints de DEA et porteurs d'une mutation du gène WNT10A.

#### Résultats

Cinquante sept patients (30F/27G) âgés de 15 ans en moyenne (4-35 ans) sont porteurs d'au moins une mutation WNT10A. Le phénotype est caractérisé par une microdontie (n=50), une hypohidrose globale (n= 19), une hyperhidrose des extrémités (n= 17), une intolérance à la chaleur (n=40). Les cheveux sont d'aspect normal (n= 37) ; leur pousse est rapide (n= 20). Une raréfaction des sourcils (n=25), une discrète kératodermie palmo-plantaire (n=15), des anomalies unguéales (ongles cassants, koïlonichie, n= 43) existent. Chez deux patients, le phénotype se limite à une atteinte dentaire. Il correspond à l'association anhidrose/hypopilosité/oligodontie chez deux autres patients. Trente patients sont homozygotes pour une mutation WNT10A. Pour 17 d'entre eux WNT10A était le premier gène analysé.

#### Commentaires

Le phénotype «WNT10A» est souvent caractéristique : atteinte dentaire au premier plan, discrétion du phénotype cutané souvent limité à une intolérance à la chaleur et des signes unguéaux absents au cours des autres DEA. Il a conduit à séquencer le gène WNT10A en première intention chez 24 patients et identifier une mutation chez 17.

Le gène WNT10A apparaît comme un gène majeur de DEA. Des mutations sont identifiées chez 16% des DEA. En terme de fréquence de mutations, il se situe après le gène EDA1 impliqué dans les formes de DEA liées au chromosome X. La transmission autosomique récessive prévaut.

#### Conclusion

Au cours des DEA, une corrélation génotype-phénotype semble exister pour le gène WNT10A.

**Mots-clefs :** corrélation génotype-phénotype, WNT10A, dysplasie ectodermique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D243/#789

### Démembrement Génétique des Neuropathies Optiques Héréditaires

Majida Charif (1), Nelson Hieu (1), François Halloy (1), Cecile Delettre (1), Maxime Hebrard (1), Gael Manes (1), Isabelle Meunier (1,2), Agathe Roubertie (1,3) Christian Hamel (1,2), Guy Lenaers (1)  
1. Institut des Neurosciences de Montpellier, INSERM U1051, Montpellier, France  
2. Ophtalmologie, CNRMR Maolya, CHU Gui de Chauliac, Montpellier, France  
3. Neuropédiatrie, CHU Gui de Chauliac, Montpellier, France

**Auteur correspondant :** Lenaers Guy (guy.lenaers@inserm.fr)

Les neuropathies optiques héréditaires (NOH) sont des pathologies mitochondriales cécitantes majoritairement non-syndromiques qui affectent la fonctionnalité et la survie du nerf optique. Leur transmission est soit autosomique dominante et l'on parle volontiers d'Atrophie Optique Dominante ou maladie de Kjer, soit récessive dans des cas très rares, soit mitochondriale dans le cas de la Neuropathie Optique Héréditaire de Leber. En 2012, seuls trois gènes autosomiques OPA1, OPA3 et OPA7 étaient connus, n'expliquant que l'étiologie de moins 50% des patients. Nous avons utilisé le séquençage d'exome, de patients à transmission dominante ou récessive, pour identifier de nouveaux déterminants géniques des NOHs. Nos résultats montrent que le gène WFS1, responsable du syndrome de Wolfram, est probablement la seconde cause de NOH, souvent associée à une surdité ; cette observation suggère un lien fonctionnel entre le réticulum endoplasmique où se situe Wfs1 et la mitochondrie. D'autres nouvelles mutations dans des gènes responsables de tableaux cliniques complexes ont été identifiées, ainsi que des mutations dans de nouveaux gènes codant des protéines mitochondriales.

Nous présenterons un bilan du démembrement génétique des NOHs et des hypothèses pathophysiologiques attendantes.

**Mots-clefs :** nerf optique, mitochondries, neuropathies



## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D244/#791

### Identification de mutations dans les gènes d'IFT-B chez des patients avec ciliopathies rénales et squelettiques

Albane Bizet (1), Pauline Krug (1), Emilie Filhol (1), Jan Halbritter (2), Miriam Schmidts (3), Anita Becker-Heck (4), Flora Silbermann (1), Christine Bole-Feysot (5), Patrick Nitschké (6), Bertrand Knebelmann (7), Kalman Tory (1), Stéphane Burtey (8), Attila Szabó (9), Huguette Valette (10), Lucie Pinson (10), Bernard Goubaux (11), Anne Maisin (12), Philippe Dubot (13), Rémi Salomon (1), Corinne Antignac (1), Marie-Claire Gubler (1), Cécile Jeanpierre (1), Nicholas Katsanis (14), Emma Duncan (15), Andreas Sailer (4), Philip Beales (16), Hannah Mitchison (16), Friedhelm Hildebrandt (2), Pierre Saint-Mezard (4), Alexandre Benmerah (1), Sophie Saunier (1)

1. Inserm U983, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Division de Néphrologie, Boston Children's Hospital, Boston, USA
3. Unité de médecine moléculaire et Centre de recherche des défauts de naissance, University College London Institute of Child Health, Londres, Royaume-Uni
4. recherche biomédicale, Institut Novartis, Bâle, Suisse
5. Plateforme de Génomique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Plateforme de Bioinformatique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Département de Néphrologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
8. Centre de néphrologie et transplantation rénale, Hôpital de la conception, Marseille, France
9. Département de Pédiatrie, Semmelweis University, Budapest, Hongrie
10. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
11. Service d'Anesthésie-Réanimation, Hôpital de L'Archet II, Nice, France
12. Service de Néphrologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
13. Service de Néphrologie, Centre Hospitalier William Rorey, Chalon sur Saône, France
14. Center for Human Disease Modeling, Duke University, Durham, USA
15. Département d'Endocrinologie, Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, Australie
16. Unité de médecine moléculaire et Centre de recherche des défauts de naissance, University College London Institute of Child Health, Londres, France

**Auteur correspondant :** Bizet Albane (albane.bizet@inserm.fr)

La néphronoptose (NPH) est une néphropathie tubulo-interstitielle chronique, caractérisée par le développement d'une fibrose rénale massive et de kystes à la jonction corti-comédullaire, représentant une cause génétique fréquente d'insuffisance rénale terminale chez l'enfant. La NPH est une des manifestations majeures des ciliopathies, un large groupe de maladies hétérogènes aussi bien sur le plan clinique que génétique. Les ciliopathies sont dues à des dysfonctionnements du cil primaire, un organelle présent à la surface de la plupart des cellules des vertébrés et qui contrôle des voies de signalisation clefs au cours du développement et de l'homéostasie tissulaire. Des atteintes extra-rénales sont fréquemment associées à la NPH : rétinite pigmentaire, syndrome cerebelleux, anomalies squelettiques, situs inversus. A ce jour, des mutations autosomiques récessives causant la NPH ont été identifiées dans plus de seize gènes. Les produits de ces gènes participent à la fonction ciliaire, soit en formant des complexes à la base du cil jouant le rôle de « gatekeeper » (notamment NPHP1, NPHP4 et NPHP8), soit en régulant le transport rétrograde le long du cil (6 gènes d'IFT-A). Cependant, aucun des 14 gènes codant pour les sous-unités du complexe IFT-B régulant le transport antérograde n'a encore été associé à la NPH. Par séquençage d'exome total ou ciblé (1200 gènes candidats ciliaires) d'une cohorte de 122 patients avec une NPH associée à des atteintes extra-rénales, nous avons identifié des mutations récessives de deux gènes d'IFT-B dans 6 familles. En parallèle, la combinaison de séquençage d'exome total et ciblé des gènes d'IFT-B menée sur plus de 1000 individus avec ciliopathies a permis d'identifier des mutations dans 11 autres familles. Le phénotype des patients est très variable, la plupart présentant une atteinte rénale de type NPH associée à des anomalies osseuses caractéristiques des syndromes de Jeune ou Saldino-Mainzer (thorax étroit, épiphyses en cônes), une

fibrose hépatique, une dégénérescence rétinienne et/ou une aplasie ou hypoplasie du cervelet. Tous les patients sont porteurs d'au moins une mutation faux-sens. Nous avons montré que les mutations des gènes d'IFT-B entraînent des défauts ciliaires dans les fibroblastes et les tubules rénaux de patients : cils plus longs, altération de la composition ciliaire et des voies de signalisation sonic hedgehog et cAMP/PKA. Ainsi, nos résultats montrent que des mutations hypomorphes des gènes IFT-B sont responsables de ciliopathies rénales et squelettiques et engendrent des défauts ciliaires similaires à ceux observés pour les mutations des gènes IFT-A et NPHP.

**Mots-clés :** ciliopathies, néphronoptose, IFT-B

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D245/#792

### Identification de mutations de CCDC41 dans la néphronophtise infantile

Marion Failler (1), Pauline Krug (2), Heon Yung Gee (3), Lilya Belkacem (1), Emilie Fihol (1), Joon Kim (4), Jan Halbritter (3), Christine Bole-Feysot (5), Patrick Nitschké (6), Edgar A. Otto (7), Karine Brochard (8), Bruno Hurault de Ligny (9), Robert Novo (10), Christine Pietrement (11), Hulya Kayserili (12), Rémi Salomon (2), Corinne Antignac (13), Laurence Heidet (14), Marie-Claire Gubler (1), Friedhelm Hildebrandt (3), Alexandre Benmerah (15), Sophie Saunier (1)

1. Inserm U983, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Division of Nephrology, Departments of Medicine, Boston Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA
4. Graduate School of Medical Science and Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Daejeon, Corée du sud
5. Plateforme de Génomique, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Department of Pediatrics and Communicable Diseases, University of Michigan, Ann Arbor, USA
8. Département de Pédiatrie, CHU Toulouse, Toulouse, France
9. Département de néphrologie, Hôpital Clemenceau, Caen, France
10. Département de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
11. Département de Pédiatrie, American Memorial Hospital, Reims, France
12. Division of medical genetics, Institute of child health, University of Istanbul, Istanbul, Turquie
13. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
14. Centre de Références des Maladies Rénales Hérititaires de l'Enfant et de l'Adulte, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
15. Inserm U983, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, USA

**Auteur correspondant :** Failler Marion (marion.failler@inserm.fr)

Les ciliopathies forment un groupe de pathologies hétérogènes tant sur le plan clinique que génétique. Les ciliopathies sont liées à des dysfonctionnements du cil primaire, une antenne sensorielle présente à la surface de la plupart des cellules des vertébrés et qui contrôle des voies de signalisation clés au cours du développement et de l'homéostasie tissulaire. Les cils sont constitués de microtubules assemblés à partir du centrosome qui forme alors le corpuscule basal. La néphronophtise (NPH) est une des manifestations les plus couramment associée aux ciliopathies. Cette néphropathie tubulo-interstitielle chronique, de transmission autosomique récessive évolue généralement vers l'insuffisance rénale terminale (IRT) durant l'enfance et est caractérisée par le développement d'une fibrose interstitielle massive et de kystes à la jonction cortico-médullaire. La NPH peut être associée à des signes extra-rénaux tels qu'une atteinte hépatique, neurologique, rétinienne ou osseuse. Plus de 16 gènes ont été impliqués dans la NPH, les mutations de ces gènes ne représentant que ~50% des cas. Afin d'identifier de nouveaux gènes de NPH, une cohorte de 180 patients atteints de NPH a été analysée par séquençage d'exome ciblant 1209 gènes candidats ciliaires (ciliome). Ainsi, des mutations hétérozygotes composites du gène CCDC41, codant une protéine centrosomale, ont été identifiées chez cinq patients non-apparentés présentant une NPH avec IRT précoce (< 5 ans). Une étude parallèle de séquençage de gènes codant des protéines centrosomales, incluant CCDC41, a permis d'identifier deux autres mutations homozygotes de ce gène dans deux familles avec NPH précoce. Au total, des mutations récessives de CCDC41 ont été mises en évidence dans 7 familles avec NPH isolée (2 cas) ou syndromique, associant des atteintes neurologique (4 cas), hépatique (2 cas), oculaire (2 cas) et/ou pulmonaire (1 cas). La plupart des patients sont porteurs d'au moins une mutation faux-sens ou entraînant la délétion de quelques acides aminés. CCDC41 est un composant du corpuscule basal qui joue un rôle clef dans l'ancrage du

cil primaire à la membrane plasmique. L'analyse de fibroblastes et de coupes de reins de patients montre que les mutations de CCDC41 entraînent des anomalies ciliaires (cils plus longs) et des défauts structuraux du corpuscule basal, pouvant être à l'origine d'un dysfonctionnement de la fonction ciliaire. Ces résultats démontrent donc l'implication d'une nouvelle protéine centrosomale dans la physiopathologie des formes sévères de NPH.

**Mots-clés :** ciliopathies, néphronophtise, protéine centrosomale

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D246/#793

### Une approche rationnelle de la diagnostique des épilepsies par la génétique moléculaire. A rational approach of the diagnostics of epilepsies by molecular genetics.

Zuzana Gencik-Guillier (1), Detlef Böhm (1), Friederike Bruns (1), Martin Gencik (2)  
1. diagenos, Zentrum für medizinische Genetik, Osnabrück, Allemagne  
2. Praxis für Humangenetik, medgene, Vienne, Autriche

**Auteur correspondant :** Gencik-Guillier Zuzana (guillier@diagenos.com)

Les épilepsies, en tant qu'ensemble de maladies relativement fréquentes, représentent un groupe de pathologies aux causes très diverses. Parmi la multitude des étiologies on retrouve une partie considérable (5-10%) des épilepsies d'origine monogénique ou oligogénique. Ce groupe des épilepsies à l'hérédité mendélienne connaît à son tour une grande hétérogénéité génotypique et phénotypique: d'une part le même type de remaniements génétiques sont susceptibles de conduire à des symptômes différents et d'autre part de nombreux gènes peuvent être responsables des mêmes manifestations cliniques, ce qui s'explique dans le contexte des pathomécanismes complexes des épilepsies elles-mêmes. Aujourd'hui on connaît plus de 400 gènes dont les remaniements peuvent être considérés comme responsables des divers symptômes d'épilepsie.

L'établissement du diagnostic en routine de ce groupe d'épilepsies a été récemment possible grâce à l'accroissement des connaissances en épileptologie, mais surtout grâce aux progrès méthodologiques.

Depuis 2008 nous avons étudié dans notre institut environ 250 patients atteints des symptômes d'épilepsie suspecté d'étiologie monogénique et leurs familles par une analyse moléculaire.

Progressivement, nous avons construits divers NGS panels qui permettent de tester simultanément de nombreux gènes susceptibles de la même manifestation phénotypique. De tels "in house panels" ciblent l'hétérogénéité géno- et phénotypique des épilepsies et augmentent considérablement l'efficacité du dépistage. À titre d'exemple, nous avons identifié la mutation causale chez 23% des patients souffrants des GEFS + (épilepsies généralisées avec convulsions fébriles plus). Une place particulière revient aux épilepsies infantiles thérapeutiquement résistantes, notamment au Dravet syndrome. Nous avons pu confirmer par analyse moléculaire un diagnostic positif chez 17% de ces patients.

Nous présentons ensuite nos premiers résultats du diagnostic des épilepsies par l'approche de l'exomique, qui sont très encourageants et prometteurs pour le diagnostic des épilepsies héréditaires aux phénotypes atypiques. Comme nous le montrerons sur un de nos exemples cliniques, une telle approche permet en même temps d'étudier les causes responsables de la variabilité clinique intrafamiliale en identifiant d'autres remaniements dans l'exome de nos probands.

Nos résultats par l'array CGH confirment l'utilité des recherches des CNV's qui restent une constante dans le diagnostic des épilepsies syndromiques.

Malgré la complexité de la problématique, l'identification exacte de l'origine génétique est d'une importance décisive tout particulièrement chez le patient épileptique, parce que c'est elle qui détermine la prise en charge thérapeutique adaptée.

Nous discutons les perspectives du diagnostic des prédispositions pour les épilepsies idiopathiques, qui sont des maladies complexes avec une forte composante génétique.

**Mots-clefs :** épilepsies monogéniques, épilepsies syndromiques, épilepsies iatrogènes, diagnostic moléculaire de routine, NGS, gene panels, array CGH, exomique

## Maladies monogéniques : de la clinique au mécanisme

D247/#794

### Syndrome de Stormorken : une mutation du gène STIM1 est responsable d'une activation constitutionnelle de la voie capacitative d'entrée du calcium.

Gilles Morin (1), Guillaume Jedraszak (1), A Rabbind Singh (1), Bernard Roméo (2), Elisabeth Bourges-Petit (3), Dominique Brémond-Gignac (4), Halima Ouadid-Ahidouch (5), Henri Sevestre (6), Michèle Mathieu (1), Jacques Rochette (1)

1. Département de Génétique, EA 4666, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
2. Pneumologie Pédiatrique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
3. Cardiologie Pédiatrique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
4. Service d'Ophtalmologie, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
5. Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Moléculaire, EA 4667, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France
6. Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France

**Auteur correspondant :** Morin Gilles (morin.gilles@chu-amiens.fr)

#### Background

Le syndrome de Stormorken (SS) est une pathologie rare de transmission autosomique dominante (AD) associant une myosis, une thrombopénie, une thrombopathie, une myopathie à agrégats tubulaires, une asplénie, une petite taille, une ichtyose, des difficultés développementales et une hypocalcémie modérée. Jusqu'à présent, seulement 8 patients ont été rapportés dans 5 familles. L'hypocalcémie relevée chez certains patients a fait évoquer la possibilité d'une atteinte de l'homéostasie calcique. De plus, la découverte récente de mutations hétérozygotes du gène STIM1 dans la forme isolée AD de myopathie à agrégats tubulaires (MAT) a fait apparaître STIM1 comme un bon gène candidat pour le SS.

#### Méthode

Nous rapportons une étude familiale réalisée chez un père et son fils atteints par le SS. Tous deux ont une hypocalcémie modérée. Une MAT a été retrouvée chez le père. Dans le but de découvrir la cause génétique du SS, nous avons étudié STIM1 par séquençage direct dans cette famille.

#### Résultats

Une mutation hétérozygote de l'exon 7 du gène STIM1 (c.910C>T ; p.R304W) a été identifiée chez les 2 patients. La mutation est absente chez les autres membres de la famille. L'étude du métabolisme calcique dans des cellules transfectées porteuses de la mutation c.910C>T montre une entrée calcique permanente, indépendamment des réserves intra-cellulaires de calcium, indiquant une activation constitutionnelle de la voie capacitative d'entrée du calcium.

#### Discussion

La protéine STIM1 est composée de 685 acides aminés (AA). Elle possède un domaine transmembranaire unique traversant la membrane du réticulum endoplasmique (RE) séparant la partie N-terminale située dans la lumière du RE, de la partie C-terminale située

en dehors. La région N-terminale comprend 2 domaines EF-hands captant le niveau de calcium dans le RE et un domaine SAM (sterile alpha motif). La partie C-terminale de STIM1 possède 2 domaines coiled-coil, un domaine riche en Pro/Ser et un domaine riche en Lys. Dans les cellules au repos, STIM1 était maintenue dans un état dimérique. Pour activer l'entrée intra-cellulaire de calcium, STIM1 s'oligomérisait et interagissait avec le canal ORAI1. Le second domaine coiled-coil est appelé SOAR (STIM-ORAI activation region) et régit les interactions entre STIM1 et ORAI1. Entre les 2 domaines coiled-coil se trouve une hélice inhibitrice (HI) (AA 310-337) qui maintient STIM1 dans un état dimérique inactif. La mutation retrouvée dans la famille de SS est située dans l'hélice alpha 2 du 1er domaine coiled\_coil, à proximité immédiate de l'HI. Les études fonctionnelles réalisées suggèrent qu'elle inhiberait l'HI, induisant une activation constitutionnelle de calcium par la voie capacitative. De manière différente, les mutations retrouvées dans la forme isolée de MAT concernent les domaines EF-hands et modifient la perception du niveau calcique dans le RE, entraînant aussi une activation constitutionnelle de la voie capacitative, mais par un mécanisme différent.

**Mots-clefs :** Syndrome de Stormorken, STIM1, myopathie à agrégats tubulaires